(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 971 001**

(51) Int. CI.:

C07K 16/08 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)
A61P 31/20 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.06.2021 PCT/EP2021/065462**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **16.12.2021 WO21250097**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.06.2021 E 21730952 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.11.2023 EP 4126932**

(54) Título: **Moléculas de anticuerpos anti-virus BK**

(30) Prioridad:

09.06.2020 EP 20179041
09.06.2020 EP 20179044

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.06.2024

(73) Titular/es:

MEMO THERAPEUTICS AG (33.3%)
Wagistrasse 27
8952 Schlieren, CH;
UNIVERSITÄT BERN (33.3%) y
UNIVERSITÄT ZÜRICH (33.3%)

(72) Inventor/es:

WEBER, MARCEL;
SCHMITT, SIMONE;
ESSLINGER, CHRISTOPH;
SCHACHTNER, THOMAS;
HUYNH-DO, UYEN y
PROVENZANO, MAURIZIO

(74) Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

Observaciones:

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

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

DESCRIPCIÓN

Moléculas de anticuerpos anti-virus BK

Campo

La presente divulgación se refiere a moléculas de anticuerpos anti-virus BK o a fragmentos de unión de las mismas. La presente divulgación se refiere además a ácidos nucleicos que codifican para las moléculas de anticuerpos o fragmentos de unión de las mismas, a vectores de expresión, a células huésped y a métodos para producir las moléculas de anticuerpos o fragmentos de unión de las mismas. También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden las moléculas de anticuerpos o fragmentos de unión de las mismas. Las moléculas de anticuerpos anti-virus BK o fragmentos de unión de las mismas de la presente divulgación pueden usarse (solas o en combinación con otros agentes o modalidades terapéuticas) para tratar o prevenir la infección por virus BK y/o un trastorno asociado a virus BK. Por tanto, la presente divulgación se refiere además a moléculas de anticuerpos anti-virus BK o a fragmentos de unión de las mismas, o a composiciones farmacéuticas que comprenden moléculas de anticuerpos anti-virus BK o fragmentos de unión de las mismas, para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección por virus BK y/o un trastorno asociado a virus BK. También se proporciona una composición de diagnóstico que comprende la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma.

Antecedentes

Los fármacos inmunosupresores son el tratamiento de referencia para los receptores de trasplantes para permitir el injerto y prevenir el rechazo del injerto. La inmunosupresión puede desencadenar la reactivación del poliomavirus BK humano, por ejemplo, en del 40 al 50 % de los receptores de trasplante de riñón (Hurdiss *et al*., Structure, 5 de abril de 2016; 24(4):528-536) y en hasta el 10 % de los casos esto conduce a nefropatía asociada a virus BK (VBK) (BKVAN) (Bennett *et al*., Microbes Infect, agosto de 2012; 14(9):672-83, Rinaldo *et al*, APMIS, agosto de 2013; 121(8):728-45). BKVAN es una grave amenaza y puede dar como resultado pérdida de la función del injerto o incluso pérdida del injerto (Ramos *et al*., Transplantation, 15 de marzo de 2009; 87(5):621-30). El uso de antivirales ha tenido resultados de eficacia contradictorios y no se considera una opción de tratamiento valiosa (Santeusanio *et al*. Am J Health Syst Pharm, 15 de diciembre de 2017; 74(24): 2037-2045; Kable *et al*., Transplant Direct, 10 de marzo de 2017; 3(4): e142).

El tratamiento de referencia para una viremia aguda es, por tanto, disminuir la inmunosupresión para permitir que el sistema inmunitario controle el virus. Sin embargo, esto conduce a un riesgo significativo de disfunción del injerto a corto y largo plazo debido a reacciones inmunitarias del huésped contra el injerto tales como la formación de anticuerpos específicos del donante.

Los documentos WO 2017/046676 y WO 2019/106578 describen anticuerpos neutralizantes de poliomavirus.

En vista de la necesidad en curso de estrategias mejoradas para una terapia profiláctica o curativa en pacientes inmunosuprimidos, son sumamente deseables nuevas composiciones para neutralizar la actividad del virus BK.

Sumario

La presente invención se define en las reivindicaciones.

Aspecto A

En un aspecto A1, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo anti-virus BK o a un fragmento de unión anti-virus BK de la misma.

Propiedades estructurales

En algunas realizaciones del aspecto A1, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo anti-virus BK o a un fragmento de unión anti-virus BK de la misma, en donde la molécula de anticuerpo o fragmento de unión comprende al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis regiones determinantes de complementariedad (CDR) (o conjuntamente todas las CDR) de una región variable de cadena pesada (VH) y/o una región variable de cadena ligera (VL) que comprenden una secuencia de aminoácidos mostrada en la tabla 3, en donde una o más de las CDR (o conjuntamente todas las CDR) pueden tener uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o más cambios, por ejemplo, sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, en relación con una secuencia de aminoácidos mostrada en la tabla 3.

En algunas realizaciones del aspecto A1, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo anti-virus BK o a un fragmento de unión anti-virus BK de la misma, que comprende:

una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una, dos o tres de: una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 21 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 22 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 23 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones; y/o una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una, dos o tres de: una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 24 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 25 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 26 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones.

En algunas realizaciones del aspecto A1, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo anti-virus BK o a un fragmento de unión anti-virus BK de la misma que comprende:

una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 23, o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras); y/o

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 26, o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras).

En algunas realizaciones del aspecto A1, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo anti-virus BK o a un fragmento de unión anti-virus BK de la misma, que comprende:

una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 21 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 22 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 23 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras); y/o

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 24 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 25 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 26 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras).

En algunas realizaciones del aspecto A1, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo anti-virus BK o a un fragmento de unión anti-virus BK de la misma, que comprende:

una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 21, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 22 o una secuencia que tiene una, dos o tres sustituciones de aminoácidos, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 23; y/o

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 24 o una secuencia que tiene una o dos sustituciones de aminoácidos, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 25, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de

complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 26 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos.

En algunas realizaciones del aspecto A1, la molécula de anticuerpo anti-virus BK o un fragmento de unión anti-virus BK de la misma comprende:

una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 21, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 22, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 23; y

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 24, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 25, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 26,

en donde uno o dos aminoácidos dentro de una CDR se han insertado, delecionado o sustituido.

Según la invención, la molécula de anticuerpo anti-virus BK o un fragmento de unión anti-virus BK de la misma comprende:

una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 21, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 22, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 23; y

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 24, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 25, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 26.

En algunas realizaciones del aspecto A1, la molécula de anticuerpo anti-virus BK o un fragmento de unión anti-virus BK de la misma comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 27.

En algunas realizaciones del aspecto A1, la molécula de anticuerpo anti-virus BK o un fragmento de unión anti-virus BK de la misma comprende (i) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 28; o (ii) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 31.

En algunas realizaciones del aspecto A1, la molécula de anticuerpo anti-virus BK o un fragmento de unión anti-virus BK de la misma comprende

(i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 27; y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 28; o

(ii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 27; y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 31.

En algunas realizaciones del aspecto A1, la molécula de anticuerpo anti-virus BK o un fragmento de unión anti-virus BK de la misma comprende

(i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28; o

(ii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31.

Propiedades funcionales

En algunas realizaciones del aspecto A1, la molécula de anticuerpo anti-virus BK o un fragmento de unión anti-virus BK de la misma comprende una o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9) de las siguientes propiedades:

(i) se une a VP1 de virus BK serotipo I con una CE50 de menos de aproximadamente 10 nM, 1 nM, 0,9 nM, 0,8 nM, 0,7 nM, 0,6 nM, 0,5 nM, 0,4 nM, 0,3 nM, 0,2 nM, 0,19 nM, 0,18 nM, 0,17 nM, 0,16 nM, 0,15 nM, 0,14 nM, 0,13 nM, 0,12 nM, 0,11 nM, 0,10 nM, 0,09 nM, 0,08 nM, 0,07 nM, 0,06 nM, 0,05 nM, 0,04 nM, 0,03 nM o 0,02 nM por ejemplo, cuando la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma se somete a prueba como molécula bivalente usando ELISA, por ejemplo, tal como se describe en el ejemplo 2;

(ii) se une a VP1 de virus BK serotipo II con una CE50 de menos de aproximadamente 10 nM, 1 nM, 0,9 nM, 0,8 nM, 0,7 nM, 0,6 nM, 0,5 nM, 0,4 nM, 0,3 nM, 0,2 nM, 0,19 nM, 0,18 nM, 0,17 nM, 0,16 nM, 0,15 nM, 0,14 nM, 0,13 nM, 0,12 nM, 0,11 nM, 0,10 nM, 0,09 nM, 0,08 nM, 0,07 nM, 0,06 nM, 0,05 nM, 0,04 nM, 0,03 nM o 0,02 nM por ejemplo, cuando la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma se somete a prueba como molécula bivalente usando ELISA, por ejemplo, tal como se describe en el ejemplo 2;

(iii) se une a VP1 de virus BK serotipo III con una CE50 de menos de aproximadamente 10 nM, 1 nM, 0,9 nM, 0,8 nM, 0,7 nM, 0,6 nM, 0,5 nM, 0,4 nM, 0,3 nM, 0,2 nM, 0,19 nM, 0,18 nM, 0,17 nM, 0,16 nM, 0,15 nM, 0,14 nM, 0,13 nM, 0,12 nM, 0,11 nM, 0,10 nM, 0,09 nM, 0,08 nM, 0,07 nM, 0,06 nM, 0,05 nM, 0,04 nM, 0,03 nM o 0,02 nM por ejemplo, cuando la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma se somete a prueba como molécula bivalente usando ELISA, por ejemplo, tal como se describe en el ejemplo 2;

(iv) se une a VP1 de virus BK serotipo IV con una CE50 de menos de aproximadamente 10 nM, 1 nM, 0,9 nM, 0,8 nM, 0,7 nM, 0,6 nM, 0,5 nM, 0,4 nM, 0,3 nM, 0,2 nM, 0,19 nM, 0,18 nM, 0,17 nM, 0,16 nM, 0,15 nM, 0,14 nM, 0,13 nM, 0,12 nM, 0,11 nM, 0,10 nM, 0,09 nM, 0,08 nM, 0,07 nM, 0,06 nM, 0,05 nM, 0,04 nM, 0,03 nM o 0,02 nM por ejemplo, cuando la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma se somete a prueba como molécula bivalente usando ELISA, por ejemplo, tal como se describe en el ejemplo 2;

(v) no se une a VP1 de virus JC; por ejemplo, tal como se describe en el ejemplo 6;

(vi) neutraliza el virus BK serotipo I;

(vii) neutraliza el virus BK serotipo II;

(viii) neutraliza el virus BK serotipo III;

(ix) neutraliza el virus BK serotipo IV.

El siguiente aspecto A2 no es según la invención y se presenta para fines ilustrativos solo. En el aspecto A2, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo o a un fragmento de unión de la misma que compite por la unión al VP1 de virus BK serotipo I, VP1 de virus BK serotipo II, VP1 de virus BK serotipo III y/o VP1 de virus BK serotipo IV con una molécula de anticuerpo o un fragmento de unión de la misma descrita en el presente documento. En algunas realizaciones del aspecto A2, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo o a un fragmento de unión de la misma que compite por la unión a VP1 de virus BK genotipo I, VP1 de virus BK genotipo II, VP1 de virus BK genotipo III y/o VP1 de virus BK genotipo IV con una molécula de anticuerpo o un fragmento de unión de la misma que comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 21, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 22, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 23; y

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 24, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 25, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 26.

En algunas realizaciones del aspecto A2, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo o a un fragmento de unión de la misma que compite por la unión a VP1 de virus BK genotipo I, VP1 de virus BK genotipo II, VP1 de virus BK genotipo III y/o VP1 de virus BK genotipo IV con una molécula de anticuerpo o un fragmento de unión de la misma que comprende (i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende

la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28; o (ii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31.

En un aspecto A3, la presente divulgación se refiere a una composición farmacéutica que comprende la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma descrita en el presente documento y un portador, excipiente o estabilizador farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto A4, la presente divulgación se refiere a moléculas de anticuerpos anti-virus BK o fragmentos de unión de las mismas descritas en el presente documento, o a composiciones farmacéuticas que comprenden moléculas de anticuerpos anti-virus BK o fragmentos de unión de las mismas descritas en el presente documento, para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección por virus BK y/o un trastorno asociado a virus BK. En algunas realizaciones del aspecto A4, el trastorno asociado a virus BK se selecciona del grupo que consiste en de nefropatía, nefropatía asociada a virus BK (BKVAN), cistitis hemorrágica (HC).

En un aspecto A5, la presente divulgación se refiere a un ácido nucleico que codifica para la región variable de cadena pesada y/o ligera de anticuerpo de la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma descrita en el presente documento.

En un aspecto A6, la presente divulgación se refiere a un vector de expresión que comprende el ácido nucleico descrito en el presente documento.

En un aspecto A7, la presente divulgación se refiere a una célula huésped que comprende el ácido nucleico descrito en el presente documento o el vector de expresión descrito en el presente documento.

En un aspecto A8, la presente divulgación se refiere a un método de producción de una molécula de anticuerpo, comprendiendo el método cultivar la célula huésped descrita en el presente documento en condiciones adecuadas para la expresión génica.

En un aspecto A9, la presente divulgación se refiere a una composición de diagnóstico que comprende la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma descrita en el presente documento.

Aspecto B

Los siguientes aspectos B1 a B9 no son según la invención y se presentan para fines de ilustración solo.

En un aspecto B1, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo anti-virus BK o a un fragmento de unión anti-virus BK de la misma.

Propiedades estructurales

En algunas realizaciones del aspecto B1, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo anti-virus BK o a un fragmento de unión anti-virus BK de la misma, en donde la molécula de anticuerpo o fragmento de unión comprende al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis regiones determinantes de complementariedad (CDR) (o conjuntamente todas las CDR) de una región variable de cadena pesada (VH) y/o una región variable de cadena ligera (VL) que comprenden una secuencia de aminoácidos mostrada en la tabla 4, en donde una o más de las CDR (o conjuntamente todas las CDR) pueden tener uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o más cambios, por ejemplo, sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, en relación con una secuencia de aminoácidos mostrada en la tabla 4.

En algunas realizaciones del aspecto B1, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo anti-virus BK o a un fragmento de unión anti-virus BK de la misma, que comprende:

(i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una, dos o tres de: una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 35 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones; y/o una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una, dos o tres de: una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de

aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 39 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones; o

(ii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una, dos o tres de: una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 44 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones; y/o una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una, dos o tres de: una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 39 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones; o

(iii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una, dos o tres de: una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 44 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones; y/o una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una, dos o tres de: una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 48 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), inserciones o deleciones.

En algunas realizaciones del aspecto B1, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo anti-virus BK o a un fragmento de unión anti-virus BK de la misma que comprende:

(i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36, o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras); y/o

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 39, o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras); o

(ii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36, o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras); y/o

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 48, o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras).

En algunas realizaciones del aspecto B1, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo anti-virus BK o a un fragmento de unión anti-virus BK de la misma, que comprende:

(i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 35 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras); y/o

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 39 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras); o

(ii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 44 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras); y/o

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 39 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras); o

o

(iii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 44 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras); y/o

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras), y una secuencia de aminoácidos

de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 48 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras).

En algunas realizaciones del aspecto B1, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo anti-virus BK o a un fragmento de unión anti-virus BK de la misma, que comprende:

(i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 35 o una secuencia que tiene una, dos o tres sustituciones de aminoácidos, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36; y/o

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37 o una secuencia que tiene una o dos sustituciones de aminoácidos, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 39 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos; o

(ii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 44 o una secuencia que tiene una, dos o tres sustituciones de aminoácidos, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36; y/o

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37 o una secuencia que tiene una o dos sustituciones de aminoácidos, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 39 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos; o

(iii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 44 o una secuencia que tiene una, dos o tres sustituciones de aminoácidos, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36; y/o

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37 o una secuencia que tiene una o dos sustituciones de aminoácidos, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 48 o una secuencia que tiene una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos.

En algunas realizaciones del aspecto B1, la molécula de anticuerpo anti-virus BK o un fragmento de unión anti-virus BK de la misma comprende:

(i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 35, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36; y

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 39;

en donde uno o dos aminoácidos dentro de una CDR se han insertado, delecionado o sustituido;

o

(ii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región

determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 44, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36; y

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 39;

en donde uno o dos aminoácidos dentro de una CDR se han insertado, delecionado o sustituido;

o

(iii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 44, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36; y

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 48;

en donde uno o dos aminoácidos dentro de una CDR se han insertado, delecionado o sustituido.

En algunas realizaciones del aspecto B1, la molécula de anticuerpo anti-virus BK o un fragmento de unión anti-virus BK de la misma comprende:

(i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 35, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36; y

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 39; o

(ii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 44, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36; y

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 39; o

(iii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 44, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36; y

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3

(VLCDR3) de SEQ ID NO: 48.

En algunas realizaciones del aspecto B1, la molécula de anticuerpo anti-virus BK o un fragmento de unión anti-virus BK de la misma comprende (i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 40; o (ii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 45; o (iii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 49.

En algunas realizaciones del aspecto B1, la molécula de anticuerpo anti-virus BK o un fragmento de unión anti-virus BK de la misma comprende (i) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 41; o (ii) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 50.

En algunas realizaciones del aspecto B1, la molécula de anticuerpo anti-virus BK o un fragmento de unión anti-virus BK de la misma comprende

(i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 40; y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 41; o

(ii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 45; y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 41; o

(iii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 49; y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 50.

En algunas realizaciones del aspecto B1, la molécula de anticuerpo anti-virus BK o un fragmento de unión anti-virus BK de la misma comprende

(i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41; o

(ii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41; o

(iii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50.

Propiedades funcionales

En algunas realizaciones del aspecto B1, la molécula de anticuerpo anti-virus BK o un fragmento de unión anti-virus BK de la misma comprende una o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9) de las siguientes propiedades:

(i) se une a VP1 de virus BK serotipo I con una CE50 de menos de aproximadamente 10 nM, 1 nM, 0,9 nM, 0,8 nM, 0,7 nM, 0,6 nM, 0,5 nM, 0,4 nM, 0,3 nM, 0,2 nM, 0,19 nM, 0,18 nM, 0,17 nM, 0,16 nM, 0,15 nM, 0,14 nM, 0,13 nM, 0,12 nM, 0,11 nM, 0,10 nM, 0,09 nM, 0,08 nM, 0,07 nM, 0,06 nM, 0,05 nM, 0,04 nM, 0,03 nM o 0,02 nM por ejemplo, cuando la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma se somete a prueba como molécula bivalente usando ELISA, por ejemplo, tal como se describe en el ejemplo 2;

(ii) se une a VP1 de virus BK serotipo II con una CE50 de menos de aproximadamente 10 nM, 1 nM, 0,9 nM, 0,8 nM, 0,7 nM, 0,6 nM, 0,5 nM, 0,4 nM, 0,3 nM, 0,2 nM, 0,19 nM, 0,18 nM, 0,17 nM, 0,16 nM, 0,15 nM, 0,14 nM, 0,13 nM, 0,12 nM, 0,11 nM, 0,10 nM, 0,09 nM, 0,08 nM, 0,07 nM, 0,06 nM, 0,05 nM, 0,04 nM, 0,03 nM o 0,02 nM por ejemplo, cuando la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma se somete a prueba como molécula bivalente usando ELISA, por ejemplo, tal como se describe en el ejemplo 2;

(iii) se une a VP1 de virus BK serotipo III con una CE50 de menos de aproximadamente 10 nM, 1 nM, 0,9 nM, 0,8 nM, 0,7 nM, 0,6 nM, 0,5 nM, 0,4 nM, 0,3 nM, 0,2 nM, 0,19 nM, 0,18 nM, 0,17 nM, 0,16 nM, 0,15 nM, 0,14 nM, 0,13 nM, 0,12 nM, 0,11 nM, 0,10 nM, 0,09 nM, 0,08 nM, 0,07 nM, 0,06 nM, 0,05 nM, 0,04 nM, 0,03 nM o 0,02 nM por ejemplo, cuando la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma se somete a prueba como molécula bivalente usando ELISA, por ejemplo, tal como se describe en el ejemplo 2;

(iv) se une a VP1 de virus BK serotipo IV con una CE50 de menos de aproximadamente 10 nM, 1 nM, 0,9 nM, 0,8 nM, 0,7 nM, 0,6 nM, 0,5 nM, 0,4 nM, 0,3 nM, 0,2 nM, 0,19 nM, 0,18 nM, 0,17 nM, 0,16 nM, 0,15 nM, 0,14 nM, 0,13 nM, 0,12 nM, 0,11 nM, 0,10 nM, 0,09 nM, 0,08 nM, 0,07 nM, 0,06 nM, 0,05 nM, 0,04 nM, 0,03 nM o 0,02 nM por ejemplo, cuando la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma se somete a prueba como molécula bivalente usando ELISA, por ejemplo, tal como se describe en el ejemplo 2;

(v) no se une a VP1 de virus JC; por ejemplo, tal como se describe en el ejemplo 6;

(vi) neutraliza el virus BK serotipo I;

(vii) neutraliza el virus BK serotipo II;

(viii) neutraliza el virus BK serotipo III;

(ix) neutraliza el virus BK serotipo IV.

En un aspecto B2, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo o a un fragmento de unión de la misma que compite por la unión a VP1 de virus BK serotipo I, VP1 de virus BK serotipo II, VP1 de virus BK serotipo III, y/o VP1 de virus BK serotipo IV con una molécula de anticuerpo o un fragmento de unión de la misma descrita en el presente documento. En algunas realizaciones del aspecto B2, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo o a un fragmento de unión de la misma que compite por la unión a VP1 de virus BK genotipo I, VP1 de virus BK genotipo II, VP1 de virus BK genotipo III y/o VP1 de virus BK genotipo IV con una molécula de anticuerpo o un fragmento de unión de la misma que comprende

(i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 35, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36; y

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 39; o

(ii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 44, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36; y

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 39; o

(iii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 34, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 44, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 36; y

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 37, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 38, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 48.

En algunas realizaciones del aspecto B2, la presente divulgación se refiere a una molécula de anticuerpo o a un fragmento de unión de la misma que compite por la unión a VP1 de virus BK genotipo I, VP1 de virus BK genotipo II, VP1 de virus BK genotipo III y/o VP1 de virus BK genotipo IV con una molécula de anticuerpo o un fragmento de unión de la misma que comprende

(i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41; o

(ii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41; o

(iii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50.

En un aspecto B3, la presente divulgación se refiere a una composición farmacéutica que comprende la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma descrita en el presente documento y un portador, excipiente o estabilizador farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto B4, la presente divulgación se refiere a moléculas de anticuerpos anti-virus BK o a fragmentos de unión de las mismas descritas en el presente documento, o a composiciones farmacéuticas que comprenden moléculas de anticuerpos anti-virus BK o fragmentos de unión de las mismas descritas en el presente documento, para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección por virus BK y/o un trastorno asociado a virus BK. En algunas realizaciones del aspecto B4, el trastorno asociado a virus BK se selecciona del grupo que consiste en nefropatía, nefropatía asociada a virus BK (BKVAN), cistitis hemorrágica (HC).

En un aspecto B5, la presente divulgación se refiere a un ácido nucleico que codifica para la región variable de cadena pesada y/o ligera de anticuerpo de la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma descrita en el presente documento.

En un aspecto B6, la presente divulgación se refiere a un vector de expresión que comprende el ácido nucleico descrito en el presente documento.

En un aspecto B7, la presente divulgación se refiere a una célula huésped que comprende el ácido nucleico descrito en el presente documento o el vector de expresión descrito en el presente documento.

En un aspecto B8, la presente divulgación se refiere a un método de producción de una molécula de anticuerpo, comprendiendo el método cultivar la célula huésped descrita en el presente documento en condiciones adecuadas para la expresión génica.

En un aspecto B9, la presente divulgación se refiere a una composición de diagnóstico que comprende la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma descrita en el presente documento.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1. Unión de anticuerpos anti-virus BK a VP1 de VBK serotipos I-IV en ELISA. Estos datos se usaron para determinar los valores de $CE50_E$ mediante análisis de tres parámetros en el software GraphPad Prism.

Figura 2. Evaluación cuantitativa de la neutralización mediada por anticuerpos de cepas de VBK (serotipo Ia, Ib, II, III y IV). Se usaron células 293TT como diana para la infección por pseudovirus BK que expresa luciferasa formado con cualquier VP1 de serotipo Ia, Ib, II, III y IV. Se usaron anticuerpos anti-virus BK en las concentraciones indicadas.

Figura 3. Neutralización de virus a largo plazo de VBK de tipo natural en células epiteliales tubulares renales primarias humanas mediante anticuerpos anti-virus BK. Se indica la carga de virus residual después de la coincubación a largo plazo de células, virus BK y anticuerpos anti-virus BK a las concentraciones indicadas. Las concentraciones de anticuerpo corresponden a CE95 (1,500), CE50 (0,15) y CE5 (0,015). P8D11 se etiqueta con “BM2” en esta figura.

Figura 4. Unión de anticuerpos anti-virus BK a un epítopo conformacional.

Figura 5. Evaluación de la fuerza de unión en ELISA a mutantes de VP1 y VJC de anticuerpo 319C07 y anticuerpo 336F07 en comparación con anticuerpo P8D11. Se determinaron los valores de CE50 a las diversas formas mutantes de VP1 y VP1 de JC en comparación con VP1 de tipo natural. Los mutantes de VP1 se designan en formato convencional donde el número se refiere a la posición en la secuencia de VP1-STI que se cambió del aminoácido a la izquierda del número al aminoácido a la derecha del número.

Los gráficos muestran la unión del anticuerpo 319C07, anticuerpo 336F07, anticuerpo de control de isotipo 24C03 y anticuerpo P8D11 con una selección de mutantes de VP1 de VBK y VP1 de VJC y como pentámeros de CMV-gH de antígeno irrelevante.

La tabla muestra datos para todos los mutantes de VP1 de VBK sometidos a prueba y VP1 de VJC. Se usa "+" para designar que no hay diferencia en la afinidad de unión observada entre la secuencia original y la secuencia mutada. "*red*" designa una unión reducida, "-" designa que no se observó unión.

Figura 6. Inhibición de la propagación de VBK en HRPTEC mediante anticuerpos anti-virus BK (P8D11 se etiqueta con "BM2" en esta figura).

Figura 7. Actividad ADCC de anticuerpos anti-VBK en HPRTEC infectadas y no infectadas.

Figura 8. Actividad CDC de anticuerpos anti-VBK en HPRTEC infectadas y no infectadas en presencia de suero humano.

Descripción detallada

La presente invención, tal como se describe ilustrativamente a continuación, puede ponerse en práctica adecuadamente en ausencia de cualquier elemento o elementos, limitación o limitaciones, no dados a conocer específicamente en el presente documento.

La presente invención se describirá con respecto a realizaciones particulares y con referencia a ciertas figuras, pero la invención no se limita a las mismas sino únicamente por las reivindicaciones.

Cuando se usa el término "que comprende" en la presente descripción y reivindicaciones, no excluye otros elementos. Para los fines de la presente invención, el término "que consiste en" se considera una realización preferida del término "que comprende". Si a continuación en el presente documento se define que un grupo comprende al menos un cierto número de realizaciones, esto también ha de entenderse que da a conocer un grupo, que preferiblemente consiste únicamente en estas realizaciones.

Cuando se usa un artículo indefinido o definido para referirse a un sustantivo singular, por ejemplo, "un", "una" o "el/la", esto incluye un plural de ese sustantivo a menos que se indique específicamente algo más. Los términos "aproximadamente" o "de manera aproximada" en el contexto de la presente invención denotan un intervalo de precisión que el experto en la técnica entenderá que garantiza todavía el efecto técnico de la característica en cuestión. El término indica una desviación del valor numérico indicado de ±20 %, preferiblemente ±10 % y más preferiblemente de ±5 %.

Se usan términos técnicos en su significado común. Si se transmite un significado específico a ciertos términos, a continuación se proporcionarán definiciones de los términos en cuyo contexto se usan los términos.

Ciertos aspectos de la presente divulgación se basan, al menos en parte, en la identificación de moléculas de anticuerpos anti-virus BK o fragmentos de unión de las mismas que

- se unen a y neutralizan virus BK serotipo I; y/o

- se unen a neutralizan virus BK serotipo II; y/o

- se unen a y neutralizan virus BK serotipo III; y/o

- se unen a y neutralizan virus BK serotipo IV; y/o

- no se une a VP1 de virus JC.

En una realización preferida, las moléculas de anticuerpos anti-virus BK o fragmentos de unión de las mismas neutralizan virus BK serotipos I, II, III y IV.

En otra realización preferida, las moléculas de anticuerpos anti-virus BK o fragmentos de unión de las mismas no se unen a VP1 de virus JC. El aumento de la especificidad se manifiesta por la ausencia de unión a VP1 de virus JC estrechamente relacionado. El aumento de la especificidad se considera una mayor seguridad debido al menor riesgo de reactividad inespecífica.

Como se mencionó anteriormente, la presente divulgación considera moléculas de anticuerpos anti-virus BK o fragmentos de unión de las mismas. Un anticuerpo de longitud completa incluye un dominio constante y un dominio variable. No es necesario que la región constante esté presente en un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo.

Los fragmentos de unión, por tanto, pueden incluir porciones de un anticuerpo intacto de longitud completa, tal como una región variable o de unión a antígeno del anticuerpo completo. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen fragmentos Fab, F(ab')2, Id y Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpos de cadena sencilla (por ejemplo, scFv); fragmentos de anticuerpos multiespecíficos tales como anticuerpos biespecíficos, triespecíficos y multiespecíficos (por ejemplo, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos); minicuerpos; anticuerpos recombinantes quelantes; tricuerpos o bicuerpos; intracuerpos; nanocuerpos; productos inmunofarmacéuticos modulares pequeños (SMIP), proteínas de fusión de inmunoglobulinas con dominio de unión; anticuerpos camelizados; anticuerpos que contienen VHH; y cualquier otro polipéptido formado a partir de fragmentos de anticuerpos. El experto es consciente de que la función de unión a antígeno de un anticuerpo puede realizarse mediante fragmentos de un anticuerpo de longitud completa.

En el presente documento se dan a conocer polipéptidos que tienen las secuencias especificadas, o secuencias sustancialmente idénticas o similares a las mismas, por ejemplo, secuencias que tienen al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia especificada.

La determinación del porcentaje de identidad entre dos secuencias se logra preferiblemente usando el algoritmo matemático de Karlin y Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci USA 90: 5873-5877. Tal algoritmo está incorporado en el programa BLASTp (Protein BLAST) de Altschul *et al*. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410 disponible en NCBI (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/). La determinación del porcentaje de identidad puede realizarse con los parámetros convencionales del programa BLASTp. Para los parámetros generales, la casilla “Secuencias diana máximas” puede configurarse en 100, la casilla “Consultas cortas” puede marcarse, la casilla “Umbral esperado” puede configurarse en 10, la casilla “Tamaño de palabra” puede configurarse en “3” y “Coincidencias máximas en un rango de consulta” puede configurarse en “0”. Para los parámetros de puntuación, la casilla “Matriz” puede configurarse en “BLOSUM62”, la casilla “Costes de hueco” puede configurarse en “Existencia: 11 Extensión: 1”, la casilla “Ajustes de composición” puede configurarse en “Ajuste de matriz de puntuación de composición condicional”. Para los parámetros de filtros y enmascaramiento, la casilla “Regiones de baja complejidad” puede no estar marcada, la casilla “Máscara solo para tabla de búsqueda” puede no estar marcada y la casilla “Máscara de letras minúsculas” puede no estar marcada.

Según la divulgación, una “sustitución de aminoácido conservadora” es una sustitución de aminoácido en la que el residuo de aminoácido se reemplaza con un residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral similar. En la técnica se han definido familias de residuos de aminoácidos que tienen cadenas laterales similares. Estas familias incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares no cargadas (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales beta-ramificadas (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina).

Tal como se mencionó, la divulgación también se refiere en algunas realizaciones a un ácido nucleico que codifica para moléculas de anticuerpo o fragmentos de unión de las mismas, a vectores que comprenden tales ácidos nucleicos y a células huésped que comprenden tales ácidos nucleicos o vectores.

Las moléculas de anticuerpo o fragmentos de unión de las mismas pueden estar codificados por un único ácido nucleico (por ejemplo, un único ácido nucleico que comprende secuencias de nucleótidos que codifican para los polipéptidos de cadena ligera y pesada del anticuerpo), o por dos o más ácidos nucleicos separados, cada uno de los cuales codifica para una parte diferente de la molécula de anticuerpo o fragmento de anticuerpo. Los ácidos nucleicos pueden ser ADN, ADNc, ARN y similares.

Los ácidos nucleicos descritos en el presente documento pueden insertarse en vectores. Un “vector” es cualquier molécula o composición que tiene la capacidad de transportar una secuencia de ácido nucleico a una célula adecuada donde puede tener lugar la síntesis del polipéptido codificado.

La presente divulgación, en algunos aspectos, proporciona además una célula huésped (por ejemplo, una célula aislada o purificada) que comprende un ácido nucleico o vector de la invención. La célula huésped puede ser cualquier tipo de célula capaz de transformarse con el ácido nucleico o vector de la invención para producir un

polipéptido codificado por el mismo.

Las moléculas de anticuerpos anti-virus BK o fragmentos de unión anti-virus BK de las mismas pueden formularse en composiciones, especialmente composiciones farmacéuticas. Tales composiciones comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo o fragmento de unión del mismo en mezcla con un portador, excipiente o estabilizador farmacéuticamente aceptable.

Además, las moléculas de anticuerpos anti-virus BK o fragmentos de unión anti-virus BK de las mismas y las composiciones farmacéuticas tal como se describen en el presente documento pueden administrarse en métodos de tratamiento o prevención de una infección por virus BK y/o un trastorno asociado a virus BK.

Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los medicamentos de la presente invención para su uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia (o para diagnóstico).

Ejemplos

Comentarios introductorios

Las secuencias de aminoácidos de los constructos de proteína VP1 usados en los siguientes ejemplos se resumen en la tabla 1 a continuación.

Tabla 1 - Secuencias de aminoácidos de constructos de proteína VP1

VBK serotipo I			
SEQ ID NO: 1	VP1-I	Pentámero de VP1	GGVEVLEVKTGVDAITEVECFLNPEMGDPD ENLRGFSLKLSAENDFSSDSPERKMLPCYS TARIPLPNLNEDLTCGNLLMWEAVTVQTEVI GITSMLNLHAGSQKVHEHGGGKPIQGSNFH FFAVGGDPLEMQGVLMNYRTKYPDGTITPK NPTAQSQVMNTDHKAYLDKNNAYPVECWV PDPSRNENTRYFGTFTGGENVPPVLHVTNT ATTVLLDEQGVGPLCKADSLYVSAADICGLF TNSSGTQQWRGLARYFKIRLRKRSVKNPY
SEQ ID NO: 2	VP1-Ia	Pseudovirus BK	MAPTKRKGECPGAAPKKPKEPVQVPKLLIK GGVEVLEVKTGVDAITEVECFLNPEMGDPD ENLRGFSLKLSAENDFSSDSPERKMLPCYS TARIPLPNLNEDLTCGNLLMWEAVTVQTEVI GITSMLNLHAGSQKVHEHGGGKPIQGSNFH FFAVGGDPLEMQGVLMNYRTKYPDGTITPK NPTAQSQVMNTDHKAYLDKNNAYPVECWV PDPSRNENTRYFGTFTGGENVPPVLHVTNT ATTVLLDEQGVGPLCKADSLYVSAADICGLF TNSSGTQQWRGLARYFKIRLRKRSVKNPY PISFLLSDLINRRTQRVDGQPMYGMESQVE EVRVFDGTERLPGDPDMIRYIDKQGQLQTK ML

SEQ ID NO: 3	VP1-Ib	Pseudovirus BK	MAPTKRKGECPGAAPKKPKEPVQVPKLLIK GGVEVLEVKTGLDAITEVECFLNPEMGDPD ENLRGFSLKLSAENDFSSDSPDRKMLPCYS TARIPLPNLNEDLTCGNLLMWEAVTVQTEVI GITSMLNLHAGSQKVHEHGGGKPIQGSNFH FFAVGGDPLEMQGVLMNYRTKYPEGTITPK NPTAQSQVMNTDHKAYLDKNNAYPVECWI PDPSRNENTRYFGTFTGGENVPPVLHVTNT ATTVLLDEQGVGPLCKADSLYVSAADICGLF TNSSGTQQWRGLARYFKIRLRKRSVKNPY PISFLLSDLINRRTQRVDGQPMYGMESQVE EVRVFDGTERLPGDPDMIRYIDKQGQLQTK ML
VBK serotipo II			
SEQ ID NO: 4	VP1-II	Pentámero de VP1	GGVEVLEVKTGVDAITEVECFLNPEMGDPD DNLRGYSLKLTAENAFDSDSPDKKMLPCYS TARIPLPNLNEDLTCGNLLMWEAVTVKTEVI GITSMLNLHAGSQKVHENGGGKPVQGSNF HFFAVGGDPLEMQGVLMNYRTKYPQGTIT PKNPTAQSQVMNTDHKAYLDKNNAYPVEC WIPDPSRNENTRYFGTYTGGENVPPVLHVT NTATTVLLDEQGVGPLCKADSLYVSAADIC GLFTNSSGTQQWRGLARYFKIRLRKRSVKN PY
SEQ ID NO: 5	VP1-II	Pseudovirus BK	GGVEVLEVKTGVDAITEVECFLNPEMGDPD DNLRGYSLKLTAENAFDSDSPDKKMLPCYS TARIPLPNLNEDLTCGNLLMWEAVTVKTEVI GITSMLNLHAGSQKVHENGGGKPVQGSNF HFFAVGGDPLEMQGVLMNYRTKYPQGTIT PKNPTAQSQVMNTDHKAYLDKNNAYPVEC WIPDPSRNENTRYFGTYTGGENVPPVLHVT NTATTVLLDEQGVGPLCKADSLYVSAADIC GLFTNSSGTQQWRGLARYFKIRLRKRSVKN PY MAPTKRKGECPGAAPKKPKEPVQVPKLLIK GGVEVLEVKTGVDAITEVECFLNPEMGDPD DNLRGYSLKLTAENAFDSDSPDKKMLPCYS TARIPLPNLNEDLTCGNLLMWEAVTVKTEVI GITSMLNLHAGSQKVHENGGGKPVQGSNF HFFAVGGDPLEMQGVLMNYRTKYPQGTIT PKNPTAQSQVMNTDHKAYLDKNNAYPVEC WIPDPSRNENTRYFGTYTGGENVPPVLHVT NTATTVLLDEQGVGPLCKADSLYVSAADIC GLFTNSSGTQQWRGLARYFKIRLRKRSVKN PYPISFLLSDLINRRTQRVDGQPMYGMESQ VEEVRVFDGTEQLPGDPDMIRYIDRQGQLQ TKMV
VBK serotipo III			

SEQ ID NO: 6	VP1-III	Pentámero de VP1	MAPTKRKGECPGAAPKKPKEPVQVPKLLIK GGVEVLEVKTGVDAITEVECFLNPEMGDPD DNLRGYSQHLSAENAFESDSPDRKMLPCY STARIPLPNLNEDLTCGNLLMWEAVTVKTE VIGITSMLNLHAGSQKVHENGGGKPVQGSN FHFFAVGGDPLEMQGVLMNYRTKYPQGTIT PKNPTAQSQVMNTDHKAYLDKNNAYPVEC WIPDPSRNENTRYFGTYTGGENVPPVLHVT NTATTVLLDEQGVGPLCKADSLYVSAADIC GLFTNSSGTQQWRGLARYFKIRLRKRSVKN PYPISFLLSDLINRRTQKVDGQPMYGMESQ VEEVRVFDGTEQLPGDPDMIRYIDRQGQLQ TKMV MAPTKRKGECPGAAPKKPKEPVQVPKLLIK GGVEVLEVKTGVDAITEVECFLNPEMGDPD DNLRGYSQHLSAENAFESDSPDRKMLPCY
SEQ ID NO: 7	VP1-III	Pseudovirus BK	MAPTKRKGECPGAAPKKPKEPVQVPKLLIK GGVEVLEVKTGVDAITEVECFLNPEMGDPD DNLRGYSQHLSAENAFESDSPDRKMLPCY STARIPLPNLNEDLTCGNLLMWEAVTVKTE VIGITSMLNLHAGSQKVHENGGGKPVQGSN FHFFAVGGDPLEMQGVLMNYRTKYPQGTIT PKNPTAQSQVMNTDHKAYLDKNNAYPVEC WIPDPSRNENTRYFGTYTGGENVPPVLHVT NTATTVLLDEQGVGPLCKADSLYVSAADIC GLFTNSSGTQQWRGLARYFKIRLRKRSVKN PYPISFLLSDLINRRTQRVDGQPMYGMESQ VEEVRVFDGTEQLPGDPDMIRYIDRQGQLQ TKMV
VBK serotipo IV			
SEQ ID NO: 8	VP1-IV	Pentámero de VP1	GGVEVLEVKTGVDAITEVECFLNPEMGDPD NDLRGYSLRLTAETAFDSDSPDRKMLPCYS TARIPLPNLNEDLTCGNLLMWEAVTVKTEVI GITSMLNLHAGSQKVHENGGGKPIQGSNFH FFAVGGDPLEMQGVLMNYRTKYPEGTVTP KNPTAQSQVMNTDHKAYLDKNNAYPVECW IPDPSRNENTRYFGTYTGGENVPPVLHVTN TATTVLLDEQGVGPLCKADSLYVSAADICGL FTNSSGTQQWRGLPRYFKIRMRKRSVKNP Y

SEQ ID NO: 9	VP1-IVc	Pseudovirus BK	GGVEVLEVKTGVDAITEVECFLNPEMGDPD NDLRGYSLRLTAETAFDSDSPDRKMLPCYS TARIPLPNLNEDLTCGNLLMWEAVTVKTEVI GITSMLNLHAGSQKVHENGGGKPIQGSNFH FFAVGGDPLEMQGVLMNYRTKYPEGTVTP KNPTAQSQVMNTDHKAYLDKNNAYPVECW IPDPSRNENTRYFGTYTGGENVPPVLHVTN TATTVLLDEQGVGPLCKADSLYVSAADICGL FTNSSGTQQWRGLPRYFKIRMRKRSVKNP Y MAPTKRKGECPGAAPKKPKEPVQVPKLLIK GGVEVLEVKTGVDAITEVECFLNPEMGDPD NDLRGYSLRLTAETAFDSDSPDRKMLPCYS TARIPLPNLNEDLTCGNLLMWEAVTVKTEVI GITSMLNLHAGSQKVHENGGGKPIQGSNFH FFAVGGDPLEMQGVLMNYRTKYPEGTVTP KNPTAQSQVMNTDHKAYLDKNNAYPVECW IPDPSKNENTRYFGTYTGGENVPPVLHVTN TATTVLLDEQGVGPLCKADSLYVSAADICGL FTNSSGTQQWRGLPRYFKIRLRKRSVKNPY PISFLLSDLINRRTQRVDGQPMYGMESQVE EVRVFDGTEQLPGDPDMIRYIDRQGQLQTK MV
VJC			
SEQ ID NO: 10	VP1	Pentámero de VP1	GGVEVLEVKTGVDSITEVECFLTPEMGDPD EHLRGFSKSISISDTFESDSPNRDMLPCYSV ARIPLPNLNEDLTCGNILMWEAVTLKTEVIG VTSLMNVHSNGQATHDNGAGKPVQGTSFH FFSVGGEALELQGVLFNYRTKYPDGTIFPK NATVQSQVMNTEHKAYLDKNKAYPVECWV PDPTRNENTRYFGTLTGGENVPPVLHITNT ATTVLLDEFGVGPLCKGDNLYLSAVDVCGM FTNRSGSQQWRGLSRYFKVQLRKRRVKNP Y

Anticuerpos comparativos

Se clonó P8D11 (documento WO 2017/046676) tal como se describió para los otros anticuerpos. Se fusionaron VH y VL de P8D11 tal como se describe en el documento WO 2017/046676 con los dominios constantes idénticos de IgG tal como se describe a continuación. En la tabla 2 a continuación se resumen secuencias de aminoácidos para el anticuerpo P8D11 comparativo.

El control negativo 24C3 es un anticuerpo derivado de seres humanos sanos contra el toxoide tetánico. Se fusionaron los fragmentos variables a los dominios constantes idénticos de IgG tal como se describe a continuación.

Tabla 2 - Secuencias de aminoácidos para el anticuerpo P8D11 comparativo (documento WO 2017/046676)

P8D11 (documento WO 2017/046676)		
SEQ ID NO: 11	VHCDR1 (Kabat)	NYWMT
SEQ ID NO: 12	VHCDR2 (Kabat)	NIKKDGSEKYYVDSVRG
SEQ ID NO: 13	VHCDR3 (Kabat)	VRSGRYFALDD

SEQ ID NO: 14	VLCDR1 (Kabat)	GGDNIGSRPVH
SEQ ID NO: 15	VLCDR2 (Kabat)	DDSNRPS
SEQ ID NO: 16	VLCDR3 (Kabat)	QVWSSSTDHP
SEQ ID NO: 17	VH	QVQLVESGGTLVQPGGSLRLSCAASGFTFNNYWMTW VRQAPGKGLEWVANIKKDGSEKYYVDSVRGRFTISRDN AKNSLFLQMNSLRPEDTAVYFCATVRSGRYFALDDWG QGTLVTVSS QSVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGDNIGSRPVHWYQQ KPGQAPILVVYDDSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISR VEAGDEADYYCQVWSSSTDHPFGGGTKVTVL
SEQ ID NO: 18	VL	QSVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGDNIGSRPVHWYQQ KPGQAPILVVYDDSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISR VEAGDEADYYCQVWSSSTDHPFGGGTKVTVL
SEQ ID NO: 19	Cadena pesada de longitud completa	QVQLVESGGTLVQPGGSLRLSCAASGFTFNNYWMTW VRQAPGKGLEWVANIKKDGSEKYYVDSVRGRFTISRDN AKNSLFLQMNSLRPEDTAVYFCATVRSGRYFALDDWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 20	Cadena ligera de longitud completa	QSVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGDNIGSRPVHWYQQ KPGQAPILVVYDDSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISR VEAGDEADYYCQVWSSSTDHPFGGGTKVTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD SSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSH RSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

Descubrimiento de anticuerpos

Ejemplo 1

Se usaron células B de memoria de sangre periférica de donantes humanos sanos o receptores de trasplante de riñón para preparar bibliotecas de expresión del repertorio de anticuerpos clonando las regiones variables de cadena ligera y cadena pesada de inmunoglobulina en un casete de expresión que proporciona la región pesada constante de inmunoglobulina humana combinada con un dominio transmembrana derivado de CD8 humano para permitir la presentación en células de mamífero de los anticuerpos. El examen de las bibliotecas de anticuerpos se realizó después de la transducción de la biblioteca en células HEK 293T mediante clasificación específica de antígeno usando pentámeros de VP1 del virus BK marcados fluorescentemente.

Esta clasificación produjo clones de células HEK que expresan anticuerpos específicos de virus BK que se propagaron adicionalmente para el aumento de la producción de anticuerpos para el analysis posterior de las propiedades de los anticuerpos tales como ensayos de unión adicionales en ELISA o neutralización de virus BK. La capacidad neutralizante de los anticuerpos se sometió a prueba usando pseudovirus BK (BK-PsV) que portan un plásmido indicador que expresa luciferasa y VBK de tipo natural. Entonces se subclonaron anticuerpos específicos de virus BK con alta afinidad y capacidad de neutralización de virus en vectores de expresión para la expresión de anticuerpos solubles y se expresaron después de la transfección transitoria en células HEK 293F o CHO. Entonces, se purificaron los anticuerpos sobre proteína G o proteína A para la caracterización en los diversos ensayos. En la tabla 3 a continuación se resumen secuencias de aminoácidos relacionadas con el anticuerpo 319C07 identificado. Además, se prepararon variantes y las correspondientes secuencias de aminoácidos se resumen también en la tabla 3 a continuación. En la tabla 4 a continuación se resumen secuencias de aminoácidos relacionadas con el anticuerpo 336F07 identificado. Además, se prepararon variantes y las correspondientes secuencias de aminoácidos también se resumen en la tabla 4 a continuación.

Tabla 3 - Secuencias de aminoácidos para anticuerpos anti-virus BK 319C07 y 319C07-var1.

319C07		
SEQ ID NO: 21	VHCDR1 (Kabat)	AYYWT
SEQ ID NO: 22	VHCDR2 (Kabat)	EINHRGYTNYNPSLRG
SEQ ID NO: 23	VHCDR3 (Kabat)	LRSTSGWHDYFDY
SEQ ID NO: 24	VLCDR1 (Kabat)	RASQSVSSSILA
SEQ ID NO: 25	VLCDR2 (Kabat)	GASSRAT
SEQ ID NO: 26	VLCDR3 (Kabat)	LQYGSSPLT
SEQ ID NO: 27	VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYRGSFSAYYWTWF RQPPGKGLEWIGEINHRGYTNYNPSLRGRVSISVDTSKK QFSLKLRSVNAADTAVYYCATLRSTSGWHDYFDYWGQ GTLVTVSS
SEQ ID NO: 28	VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ TPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFVVYFCLQYGSSPLTFGPGTKVDIK
SEQ ID NO: 29	Cadena pesada de longitud completa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYRGSFSAYYWTWF RQPPGKGLEWIGEINHRGYTNYNPSLRGRVSISVDTSKK QFSLKLRSVNAADTAVYYCATLRSTSGWHDYFDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ TPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFVVYFCLQYGSSPLTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 30	Cadena ligera de longitud completa	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ TPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFVVYFCLQYGSSPLTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
319C07-var1		
SEQ ID NO: 21	VHCDR1 (Kabat)	AYYWT
SEQ ID NO: 22	VHCDR2 (Kabat)	EINHRGYTNYNPSLRG
SEQ ID NO: 23	VHCDR3 (Kabat)	LRSTSGWHDYFDY
SEQ ID NO: 24	VLCDR1 (Kabat)	RASQSVSSSILA
SEQ ID NO: 25	VLCDR2 (Kabat)	GASSRAT
SEQ ID NO: 26	VLCDR3 (Kabat)	LQYGSSPLT
SEQ ID NO: 27	VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYRGSFSAYYWTWF RQPPGKGLEWIGEINHRGYTNYNPSLRGRVSISVDTSKK QFSLKLRSVNAADTAVYYCATLRSTSGWHDYFDYWGQ GTLVTVSS

SEQ ID NO: 31	VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYFCLQYGSSPLTFGPGTKVDIK
SEQ ID NO: 32	Cadena pesada de longitud completa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYRGSFSAYYWTWF RQPPGKGLEWIGEINHRGYTNYNPSLRGRVSISVDTSKK QFSLKLRSVNAADTAVYYCATLRSTSGWHDYFDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 33	Cadena ligera de longitud completa	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYFCLQYGSSPLTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Tabla 4 - Secuencias de aminoácidos para anticuerpos anti-virus BK 336F07, 336F07-var1 y 336F07-var4.

336F07		
SEQ ID NO: 34	VHCDR1 (Kabat)	LYAM N
SEQ ID NO: 35	VHCDR2 (Kabat)	LISGSGTATYYADSVTG
SEQ ID NO: 36	VHCDR3 (Kabat)	TYPTWGGVVIGAIDV
SEQ ID NO: 37	VLCDR1 (Kabat)	RASQSIQRWLA
SEQ ID NO: 38	VLCDR2 (Kabat)	DASTLES
SEQ ID NO: 39	VLCDR3 (Kabat)	QQYNGHAST
SEQ ID NO: 40	VH	EEPLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRLYAMNWVR QAPGKGLEWVSLISGSGTATYYADSVTGRFSISRDNYK NRVYLQMDSLRADDTATYYCAKTYPTWGGVVIGAIDVW GQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 41	VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSIQRWLAWHQQ KPGRAPKVLIHDASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYNGHASTFGPGTKVDIK

SEQ ID NO: 42	Cadena pesada de longitud completa	EEPLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRLYAMNWVR QAPGKGLEWVSLISGSGTATYYADSVTGRFSISRDNYK NRVYLQMDSLRADDTATYYCAKTYPTWGGVVIGAIDVW GQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 43	Cadena ligera de longitud completa	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSIQRWLAWHQQ KPGRAPKVLIHDASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYNGHASTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
336F07-var1		
SEQ ID NO: 34	VHCDR1 (Kabat)	LYAM N
SEQ ID NO: 44	VHCDR2 (Kabat)	LISGSGTATYYADSVKG
SEQ ID NO: 36	VHCDR3 (Kabat)	TYPTWGGVVIGAIDV
SEQ ID NO: 37	VLCDR1 (Kabat)	RASQSIQRWLA
SEQ ID NO: 38	VLCDR2 (Kabat)	DASTLES
SEQ ID NO: 39	VLCDR3 (Kabat)	QQYNGHAST
SEQ ID NO: 45	VH	EEPLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRLYAMNWVR QAPGKGLEWVSLISGSGTATYYADSVKGRFSISRDNSK NRVYLQMSSLRADDTATYYCAKTYPTWGGVVIGAIDVW GQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 41	VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSIQRWLAWHQQ KPGRAPKVLIHDASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYNGHASTFGPGTKVDIK
SEQ ID NO: 46	Cadena pesada de longitud completa	EEPLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRLYAMNWVR QAPGKGLEWVSLISGSGTATYYADSVKGRFSISRDNSK NRVYLQMSSLRADDTATYYCAKTYPTWGGVVIGAIDVW GQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 47	Cadena ligera de longitud completa	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSIQRWLAWHQQ KPGRAPKVLIHDASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYNGHASTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
336F07-var4		
SEQ ID NO: 34	VHCDR1 (Kabat)	LYAM N
SEQ ID NO: 44	VHCDR2 (Kabat)	LISGSGTATYYADSVKG
SEQ ID NO: 36	VHCDR3 (Kabat)	TYPTWGGVVIGAIDV
SEQ ID NO: 37	VLCDR1 (Kabat)	RASQSIQRWLA
SEQ ID NO: 38	VLCDR2 (Kabat)	DASTLES
SEQ ID NO: 48	VLCDR3 (Kabat)	QQYSGHAST
SEQ ID NO: 49	VH	EEPLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRLYAMNWVR QAPGKGLEWVSLISGSGTATYYADSVKGRFTISRDNSK NRVYLQMSSLRADDTAVYYCAKTYPTWGGVVIGAIDVW GQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 50	VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSIQRWLAWHQQ KPGKAPKLLIHDASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYSGHASTFGPGTKVDIK
SEQ ID NO: 51	Cadena pesada de longitud completa	EEPLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRLYAMNWVR QAPGKGLEWVSLISGSGTATYYADSVKGRFTISRDNSK NRVYLQMSSLRADDTAVYYCAKTYPTWGGVVIGAIDVW GQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 52	Cadena ligera de longitud completa	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSIQRWLAWHQQ KPGKAPKLLIHDASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYSGHASTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Ensayos

Ejemplo 2 – Unión a pentámero de VP1 en ELISA

Material y métodos

La unión de anticuerpos anti-virus BK a pentámeros de VP1 de VBK se analizó mediante ELISA. En resumen, se recubrieron placas de ensayo de 96 pocillos Costar®, placas de media área de alta unión (Corning Inc. n.º 3690) con 30 µl/pocillo de pentámeros de VP1 de VBK 1 µg/ml durante la noche a 4 °C. Posteriormente, se bloqueó la placa usando leche desnatada en polvo al 5 % (Rapilait, Migros n.º 7610200017598) diluida en PBS. Se diluyeron en serie los anticuerpos en PBS con leche desnatada en polvo al 0,5 % y se añadieron a las placas recubiertas con antígeno durante 1,5 h. Entonces, se lavaron las placas con PBS Tween 20 al 0,05 % (AppliChem, A4974) y se incubaron con anticuerpo secundario marcado con enzima (anticuerpo de cabra anti-IgG humana conjugado con HRP, Jackson-Immuno n.º 109-035-098) diluido 1:10.000 en PBS con leche desnatada en polvo al 0,5 % durante 45 min. Se lavaron las placas tres veces con PBS que contenía Tween 20 al 0,05 %. Se desarrolló la reacción usando sustrato líquido TMB 30 µl/pocillo (Sigma-Aldrich, n.º T0440) y se

detuvo con H_2SO_4 15 µl/pocillo. Se detectó la absorbancia a 450 nm (Tecan, CM INFINITE MONO 200). Se ajustaron los datos y se determinaron los valores de ELISA de CE50 aparentes ($CE50_E$) mediante análisis de tres parámetros en GraphPad Prism (GraphPad Software).

Resultados

El anticuerpo 319C07 mostró una unión fuerte y selectiva a todos los serotipos de VP1 de VBK (figura 1, valores de $CE50_E$ a continuación). En comparación con el anticuerpo P8D11 comparativo, el anticuerpo 319C07 mostró una mayor afinidad por el serotipo I, II y IV y mostró una afinidad comparable en VP1 de VBK-serotipo III.

$CE50_E$ (nM)	VP1-I	VP1-II	VP1-III	VP1-IV
319C07	0,05	0,06	0,06	0,06
P8D11	0,14	0,19	0,07	0,12

Además, el anticuerpo 336F07 mostró una unión fuerte y selectiva a todos los serotipos de VP1 de VBK (figura 1, valores de $CE50_E$ a continuación). En comparación con el anticuerpo P8D11 comparativo, el anticuerpo 336F07 mostró una mayor afinidad en los cuatro serotipos.

$CE50_E$ (nM)	VP1-I	VP1-II	VP1-III	VP1-IV
336F07	0,07	0,03	0,02	0,03
P8D11	0,14	0,19	0,07	0,12

Ejemplo 3 - Neutralización de pseudovirus BK mediante anticuerpos anti-virus BK

Material y métodos

Se produjo pseudovirus BK (BK-PsV) que porta el gen indicador NanoLuc tal como se describió (Pastrana *et al*, J Virol, septiembre de 2013; 87(18):10105-13). Se produjeron cinco genotipos diferentes: VBK-Ia (BK-D; JF894228), VBK-Ib2 (PittVR2; DQ989796) VBK-II (Q85238; CAA79596), VBK-III (Q0PDA6; BAF03017) y VBK-IVc2 (A-66H; AB369093). Se purificó VP1 sobre perlas de gel de agarosa tal como se describió (Buck *et al*, J Virol, junio de 2008; 82(11):5190-7 y Buck *et al*, Curr Protoc Cell Biol, diciembre de 2007; capítulo 26; 26.21). Se determinó el título de virus infeccioso en células 293TT. Se sometieron a prueba diferentes diluciones del BK-PsV en una placa de 96 pocillos con y sin inhibidor. La dilución seleccionada para ensayos adicionales dio como resultado una alta señal de luminiscencia en células no inhibidas.

Se sembraron 20.000 células (293TT) en una placa de 96 pocillos usando DMEM que contenía FBS al 9 %, HEPES y penicilina/estreptavidina. Después de una incubación de 5 h, se añadieron anticuerpos en diversas concentraciones y una cantidad fija de pseudovirus BK a cada pocillo y se incubó la placa a 37 °C, el 5 % de CO2. Después de 3 días de incubación, se midió la actividad luciferasa en el fluido sobrenadante usando el reactivo de ensayo NanoGlo™ (Promega, n.º N1130).

Se transfirieron 40 ul de cultivo celular o sobrenadante de cocultivo de virus-célula-anticuerpo a placas de 96 pocillos de fondo blanco, se añadieron 40 ul de sustrato NanoGlo™ y se incubaron durante 2 minutos antes de la determinación de la actividad luciferasa usando un lector de luminiscencia (BioTek Synergy). Se representaron gráficamente los datos en una curva de señal frente a concentración de anticuerpo. Se determinaron los valores de CI50 mediante GraphPad Prism usando regresión no lineal (ajuste de curva) y la fórmula “log(inhibidor) frente a respuesta normalizada (pendiente variable)” (software GraphPad).

Resultados

319C07 y la variante 319C07-var1 muestran una fuerte inhibición de pseudovirus BK de todos los serotipos. El rendimiento del 319C07 supera al del P8D11 significativamente (figura 2, valores de CI50 a continuación).

CI50 (nM)	Ia	Ib	II	III	IV
319C07	0,007	0,007	0,010	0,058	0,032
P8D11	0,391	0,392	0,565	0,176	2,906

Además, el anticuerpo 336F07 y las variantes 336F07-var1 y 336F07-var4 muestran una fuerte inhibición de pseudovirus BK de todos los serotipos. El rendimiento del 336F07 supera al del P8D11 significativamente (figura 2, valores de CI50 a continuación).

CI50 (nM)	Ia	Ib	II	III	IV
336F07	0,094	0,103	0,020	0,019	0,018
P8D11	0,391	0,392	0,565	0,176	2,906

Ejemplo 4 - Neutralización de virus a largo plazo mediante anticuerpos anti-virus BK

Material y métodos

Para abordar la neutralización de virus a largo plazo mediante anticuerpos anti-virus BK *in vitro*, se usaron ciclos repetitivos de cocultivos de células epiteliales tubulares proximales renales primarias humanas (HPRTEC), virus BK de tipo natural cepa I (ATCC® VR-837™) y anticuerpos anti-virus BK. Al comienzo del estudio, se añadieron anticuerpos anti-virus BK a tres concentraciones distintas correspondientes a sus potencias de inhibición viral CE95; CE50 y CE5 a cocultivos de célula-virus durante 1 semana. Después de este periodo, se recogió el virus de las células y el sobrenadante restante mediante 3 ciclos de congelación-descongelación. Entonces se añadieron 10 ul de este extracto de virus a células HRPTEC recién sembradas en presencia de anticuerpos a las diversas concentraciones. Después de 2 semanas de la inoculación, se cuantificó de nuevo la carga de virus y se generaron extractos de virus que van a usarse en el siguiente ciclo de infección. Este procedimiento se repitió 3 veces dando como resultado un total de 8 semanas de cocultivo.

Se realizó el ensayo por triplicado en placas de cultivo celular de fondo plano de 96 pocillos. La cuantificación de la carga viral en el sobrenadante de cultivo se realizó recogiendo 15 µl de medio, que luego se inactivó térmicamente a 95 °C durante 10 min y se usó para la qPCR con los cebadores 5'-GGATGGGCAGCCTATGTATG-3' (SEQ ID NO: 53) y 5'-TCATATCTGGGTCCCCTGGA-3' (SEQ ID NO: 54) y una sonda TaqMan™ FAM-AGGGTGTTTGATGGCACAGA-TAMRA (SEQ ID NO: 55). Se realizó la PCR usando PerfeCTa qPCR ToughMix (Quantabio, n.º 95140) con las siguientes condiciones: 95 °C durante 8 min y 40 ciclos de 95 °C durante 10 s y 60 °C durante 60 s.

Resultados

El anticuerpo 319C07 muestra una neutralización más completa el virus en comparación con P8D11. Esto se vuelve más evidente cuando se observa en el último ciclo de infección-neutralización después de 8 semanas donde, a concentraciones correspondientes a CE95 y CE50, ya no pudo detectarse virus, mientras que P8D11 muestra cargas virales medibles tanto en CE95 como CE50. (Figura 3, P8D11 está marcado con "BM2" en esta figura).

Además, el anticuerpo 336F07 muestra una neutralización más completa del virus en comparación con P8D11. Esto se vuelve más evidente cuando se observa en el último ciclo de infección-neutralización después de 8 semanas (figura 3, P8D11 está marcado con "BM2" en esta figura).

Ejemplo 5 – Los anticuerpos anti-virus BK se unen a un epítopo conformacional

Material y métodos

Con el fin de determinar si los anticuerpos anti-virus BK se unen a un epítopo conformacional, se realizaron inmunotransferencias por puntos de VP1 en estado nativo y en estado desnaturalizado. Se dispusieron pentámeros de VP1 de VBK de serotipos I, II, III y IV en forma de puntos en una membrana de nitrocelulosa o bien en forma nativa o bien después de la desnaturalización química y térmica usando tampón Tris que contenía SDS y β-mercaptoetanol y calentando a 85 °C durante 5 min. Se incubaron ambas membranas con los anticuerpos anti-virus BK y se reveló su unión usando anticuerpos secundarios conjugados con HRP dirigidos contra Fc humano. La detección se realizó usando un sustrato colorimétrico (Sigma Fast DAB).

Resultados

El anticuerpo 319C07 y el anticuerpo 336F07 muestran unión selectiva a un epítopo conformacional (figura 4). Debido a la ausencia de tinción del antígeno desnaturalizado, puede excluirse la unión a un epítopo lineal. El anticuerpo de control comercialmente disponible (Ab53977, Abcam, IgG de conejo) que se sabe que reconoce un epítopo lineal, detectó VP1 tanto desnaturalizada como no desnaturalizada.

Ejemplo 6 – Unión a mutaciones de pentámero de VP1 de VBK y a pentámero de VP1 de VJC en ELISA

Material y métodos

Se usó la secuencia de tipo natural de VP1-serotipo Ib como base para la introducción de mutaciones en diversas posiciones. Asimismo, se usó VP1 del virus JC. La unión de anticuerpos anti-virus BK a pentámeros de VP1 de tipo natural y variantes se analizó mediante ELISA. En resumen, se recubrieron placas de ensayo Costar® de 96 pocillos, placas de media área de alta unión (Corning Inc. n.º 3690) con 30 µl/pocillo de variantes de pentámeros de VP1 de VBK 1 µg/ml durante la noche a 4 °C. Después de 16 h, se bloqueó la unión inespecífica usando leche desnatada en polvo al 5 % (Rapilait, Migros n.º 7610200017598) diluida en PBS. Los anticuerpos se diluyeron en serie desde 67 nM hasta 0,02 nM en PBS que contenía leche desnatada en polvo al 0,5 % y se incubaron en las placas recubiertas con antígeno durante 1,5 h. Entonces, se lavaron las placas tres

veces con PBS 0,05 % Tween 20 (AppliChem, A4974) y luego se incubaron con anticuerpo secundario (anticuerpo de cabra anti-IgG humana conjugado con HRP, Jackson-Immuno n.º 109-035-098) diluido 1:10.000 en PBS con leche desnatada en polvo al 0,5 % durante 45 min. Se reveló la actividad de HRP de los anticuerpos secundarios unidos usando sustrato líquido TMB 30 µl/pocillo (Sigma-Aldrich, n.º T0440). Se detuvo la reacción después de 2,5 min mediante la adición de H2SO4 1 M 15 µl/pocillo. Se detectó la absorbancia a 450 nm (Tecan, CM INFINITE MONO 200). Se representaron gráficamente los datos y se determinaron los valores de CE50 mediante análisis de tres parámetros en GraphPad Prism (software GraphPad) y se denominan CE50ELISA (CE50E).

Resultados

Se sometió a prueba la unión a formas mutantes de VP1 de VBK en comparación con VP1 de tipo natural y con VP1 del virus del polioma JC estrechamente relacionado para el anticuerpo 319C07 en comparación con el anticuerpo P8D11. El anticuerpo 319C07 no se une en absoluto a VP1 de los virus JC, mientras que el anticuerpo P8D11 muestra unión débil pero significativa. Si los aminoácidos en la posición N62, D175 o S275 se mutan a alanina, 319C07 muestra una afinidad de unión ligeramente reducida. El cambio del aminoácido K172 a alanina no reduce la unión. Por otro lado, P8D11 muestra unión reducida al mutante VP1-I-K172A, mientras que la unión no se ve afectada por las mutaciones N62A, D175A o S275A. En comparación con el anticuerpo P8D11, 319C07 muestra en este caso un patrón claramente distinto, lo que sugiere que interacciona con aminoácidos diferente de VP1 en comparación con P8D11 (figura 5).

También se sometió a prueba la unión a formas mutantes de VP1 de VBK en comparación con VP1 de tipo natural y con VP1 del virus del polioma JC estrechamente relacionado para el anticuerpo 336F07 en comparación con el anticuerpo P8D11. El anticuerpo 336F07 no se une en absoluto a VP1 del virus JC, mientras que el anticuerpo P8D11 muestra unión débil pero significativa. Si los aminoácidos en la posición N62 o E73 se mutan, 336FC07 muestra una afinidad de unión ligeramente reducida. El cambio del aminoácido K172 a alanina no reduce la unión. Por otro lado, P8D11 muestra unión reducida al mutante VP1-I-K172A, mientras que la unión no se ve afectada por las mutaciones N62A o E73Q. En comparación con el anticuerpo P8D11, 336F07 muestra en este caso un patrón claramente distinto, lo que sugiere que interacciona con aminoácidos diferentes de VP1 en comparación con P8D11 (figura 5).

Ejemplo 7 - Inhibición de la propagación del virus a partir de células HRPTEC infectadas

Material y métodos

Se infectaron células epiteliales tubulares proximales renales humanas primarias (HRPTEC) con VBK (cepa 33-1, ATCC® 45024™). Después de 5 días, las células se rasparon suavemente con un raspador de células y se lavaron extensamente con PBS para eliminar todo el virus libre de células. Entonces se añadieron las células a pocillos que contenían HRPTEC en crecimiento adherente y diversas diluciones de anticuerpo neutralizante de VBK. 8 días después de la inoculación de células, se retiraron 10 µl de fluido sobrenadante de cada pocillo y se determinó la carga viral usando PCR cuantitativa usando los cebadores 5'-GGATGGGCAGCCTATGTATG-3' (SEQ ID NO: 53), 5'-TCATATCTGGGTCCCCTGGA-3' (SEQ ID NO: 54) y la sonda FAM-5'-AGGGTGTTTGATGGCACAGA-3'-TAMRA (SEQ ID NO: 55) tal como se describió (Martelli *et al*., Viruses, 30 de agosto de 2018; 10(9):466).

Resultados

El anticuerpo 319C07 muestra una superioridad de alrededor de 100 veces con respecto a P8D11 para la inhibición de la propagación de VBK entre HRPTEC; además, el anticuerpo 336F07 muestra una superioridad significativa con respecto a P8D11 para la inhibición de la propagación de VBK entre HRPTEC (figura 6, P8D11 está marcado con "BM2" en esta figura).

Ejemplo 8 – Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC)

Material y métodos

Se usaron como células diana HPRTEC sembradas en placas de 96 pocillos de fondo plano o bien infectadas con virus BK de tipo natural cepa I (ATCC® VR-837™) o bien sin infectar. Como células efectoras, se usaron células Jurkat modificadas por ingeniería genética, componentes del bioensayo indicador de ADCC G7015 de Promega. En este ensayo, como sustituto de la actividad ADCC, se cuantifica la señalización de Fc-γRIIIa por las células efectoras a través de una lectura de luminiscencia. Se añadieron anticuerpos anti-VBK o de control en diluciones en serie al cultivo de HPRTEC junto con las células efectoras y se incubaron durante 6 h antes del desarrollo y la medición de la bioluminiscencia tal como describe el fabricante del kit de ensayo.

Resultados

319C7 y 336F07 mostraron actividad ADCC comparable en HPRTEC infectadas, que a su vez era comparable con la de P8D11. No se observó ADCC en HPRTEC que no se infectaron con o bien 319C7 y 336F07 o bien P8D11 (Figura 7).

Ejemplo 9 – Toxicidad dependiente del complemento

Material y métodos

Se usaron como células diana HPRTEC sembradas en placas de 96 pocillos de fondo plano o bien infectadas con virus de tipo natural BK cepa I (ATCC® VR-837™) o bien sin infectar. Se incubaron las células con anticuerpos anti-VBK a diluciones en serie que comienzan con 100 μg/ml y suero humano al 20 % durante la noche y se cuantificó la viabilidad celular determinando la razón de células vivas usando el criterio de FSC/SSC en un citómetro.

Resultados

319C7 y 336F07 no mostraron actividad CDC a una concentración de 100 μg/ml en HPRTEC infectadas y se hizo la misma observación con el anticuerpo P8D11 y el anticuerpo de control Rituximab dirigido contra una diana irrelevante en HRPTEC (figura 8).

REIVINDICACIONES

1. Molécula de anticuerpo anti-virus BK o fragmento de unión anti-virus BK de la misma que comprende:

una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (VHCDR1) de SEQ ID NO: 21, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 2 (VHCDR2) de SEQ ID NO: 22, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena pesada 3 (VHCDR3) de SEQ ID NO: 23; y

una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (VLCDR1) de SEQ ID NO: 24, una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (VLCDR2) de SEQ ID NO: 25, y una secuencia de aminoácidos de región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (VLCDR3) de SEQ ID NO: 26.

2. Molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma según la reivindicación 1, que comprende

(i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 27, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 28; o

(ii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 27, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 31.

3. Molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma según las reivindicaciones 1 o 2, que comprende

(i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28; o

(ii) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31.

4. Composición farmacéutica que comprende la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 y un portador, excipiente o estabilizador farmacéuticamente aceptable.

5. Molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o composición farmacéutica según la reivindicación 4 para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección por virus BK y/o un trastorno asociado a virus BK seleccionado del grupo que consiste en nefropatía, nefropatía asociada a virus BK (BKVAN) y cistitis hemorrágica (HC).

6. Ácido nucleico que codifica para las regiones variables de cadena pesada y ligera de anticuerpo de la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3.

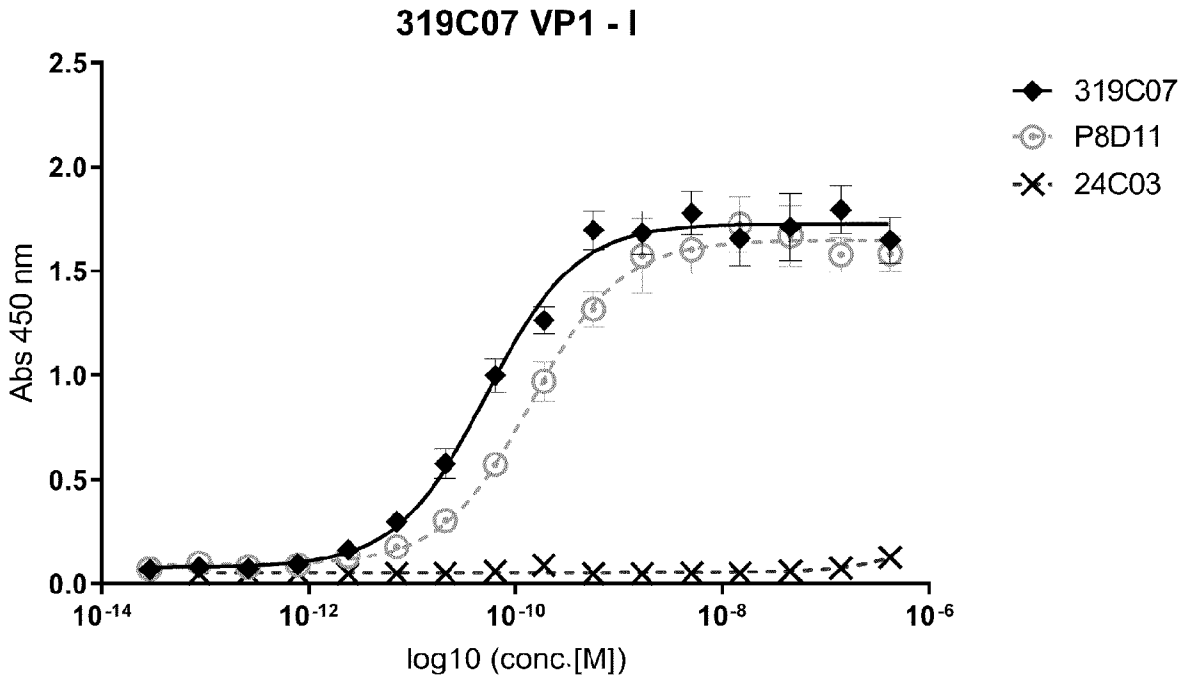
7. Vector de expresión que comprende el ácido nucleico según la reivindicación 6.

8. Célula huésped que comprende el ácido nucleico según la reivindicación 6 o el vector de expresión según la reivindicación 7.

9. Método de producción de una molécula de anticuerpo, comprendiendo el método cultivar la célula huésped según la reivindicación 8 en condiciones adecuadas para la expresión génica.

10. Composición de diagnóstico que comprende la molécula de anticuerpo o fragmento de unión de la misma según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3.

Figura 1


319C07 VP1 - I
Abs 450 nm
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
10-14
10-12
10-10
10-8
10-6
log10 (conc.[M])
319C07
P8D11
24C03

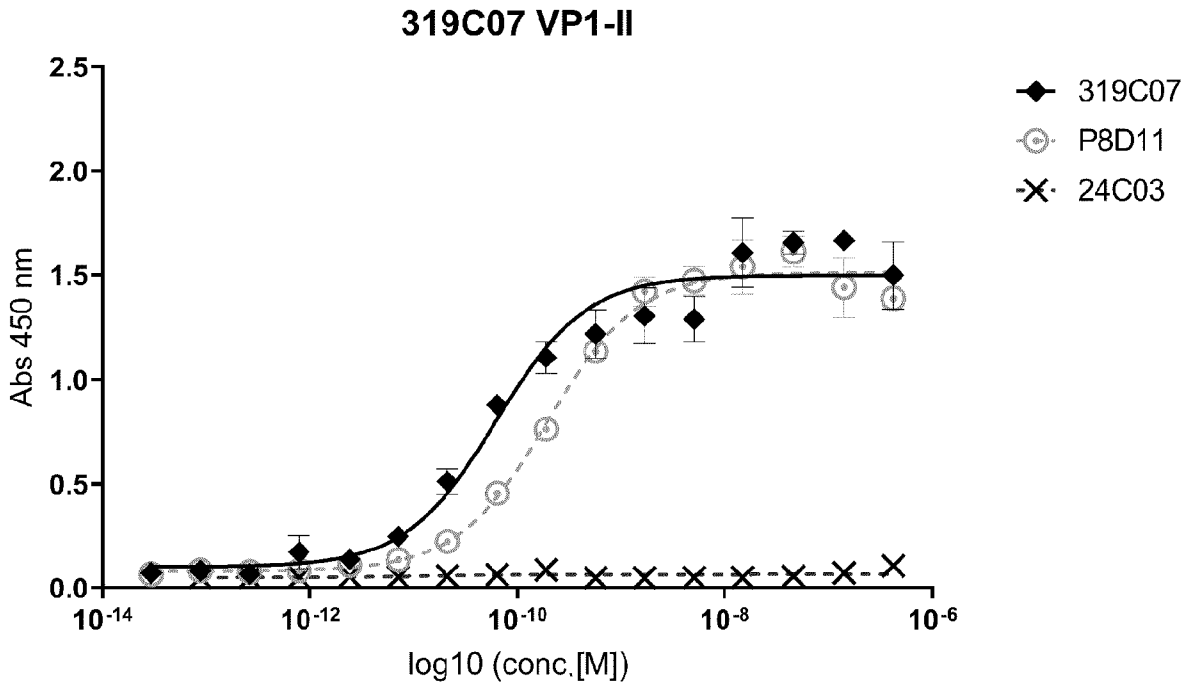
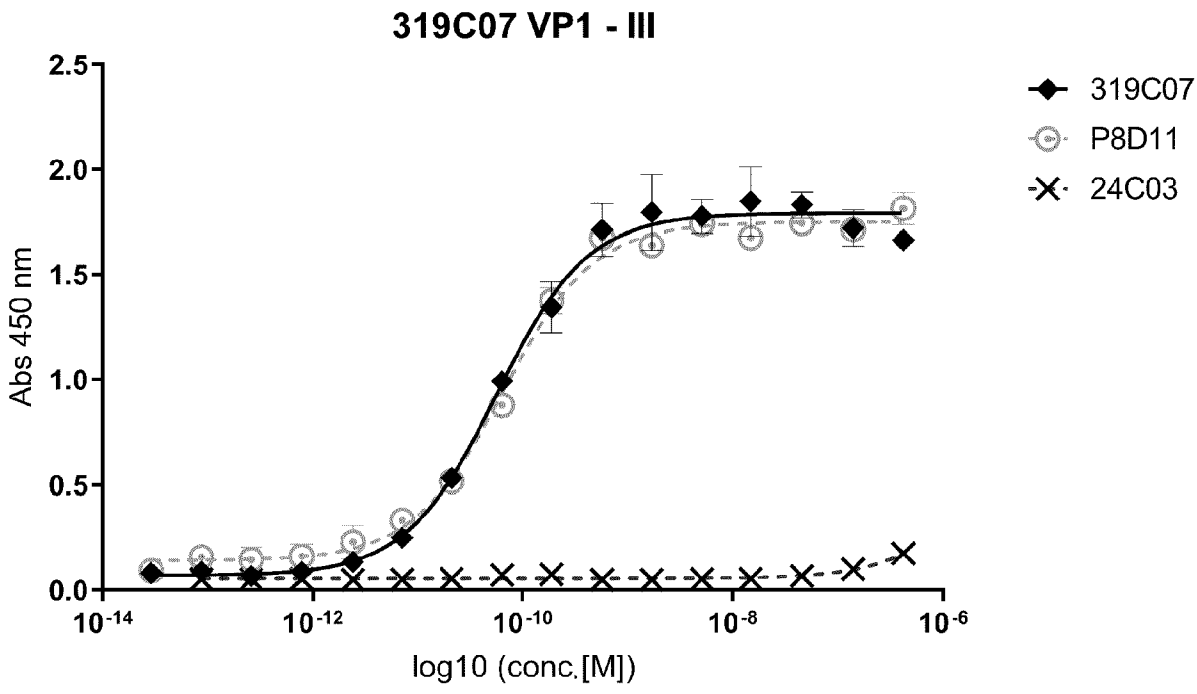

319C07 VP1-II
Abs 450 nm
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
10-14
10-12
10-10
10-8
10-6
log10 (conc.[M])
319C07
P8D11
24C03

Figura 1 - continuación



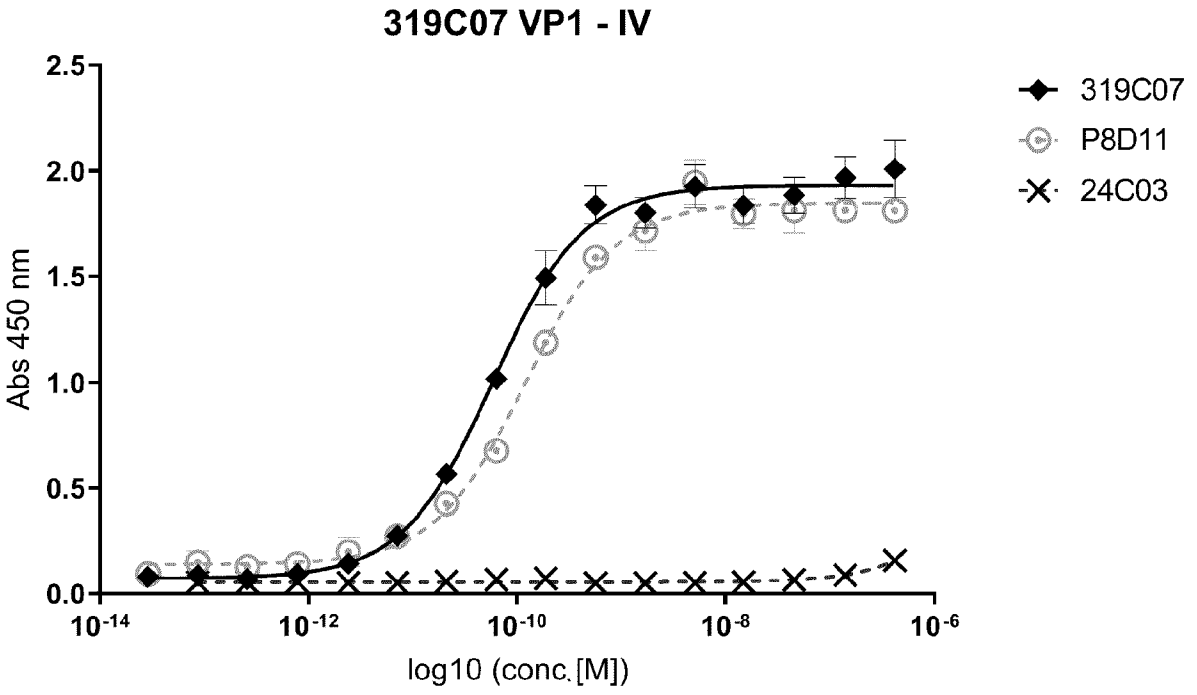
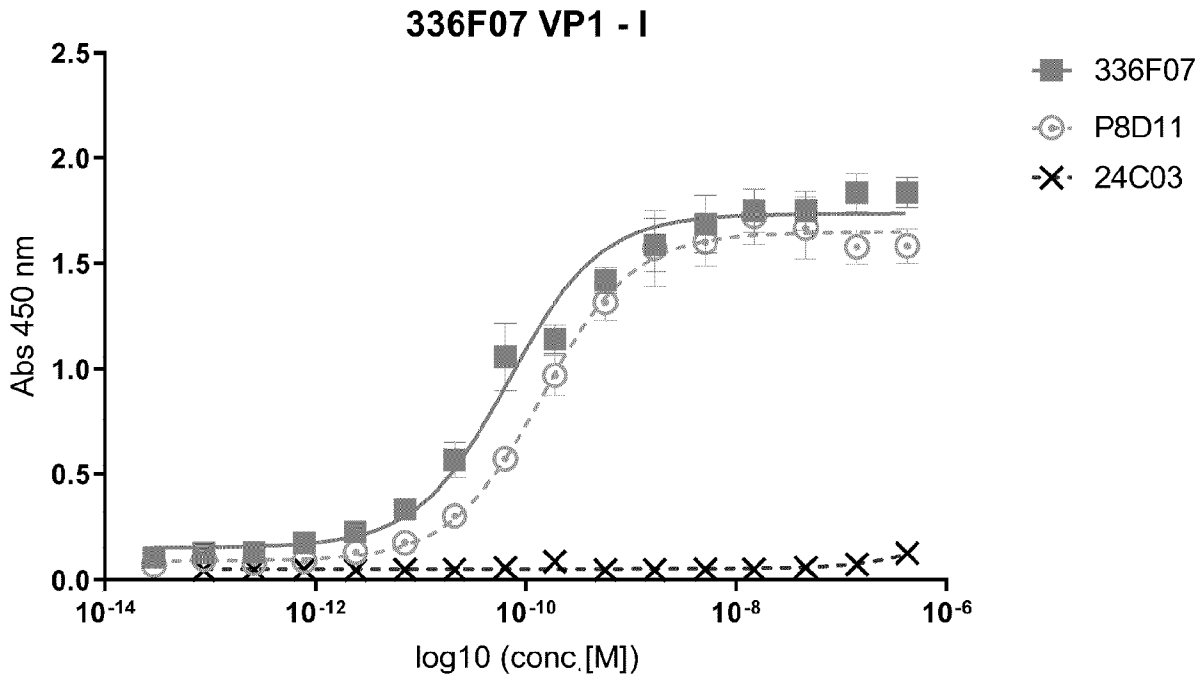


Figura 1 - continuación



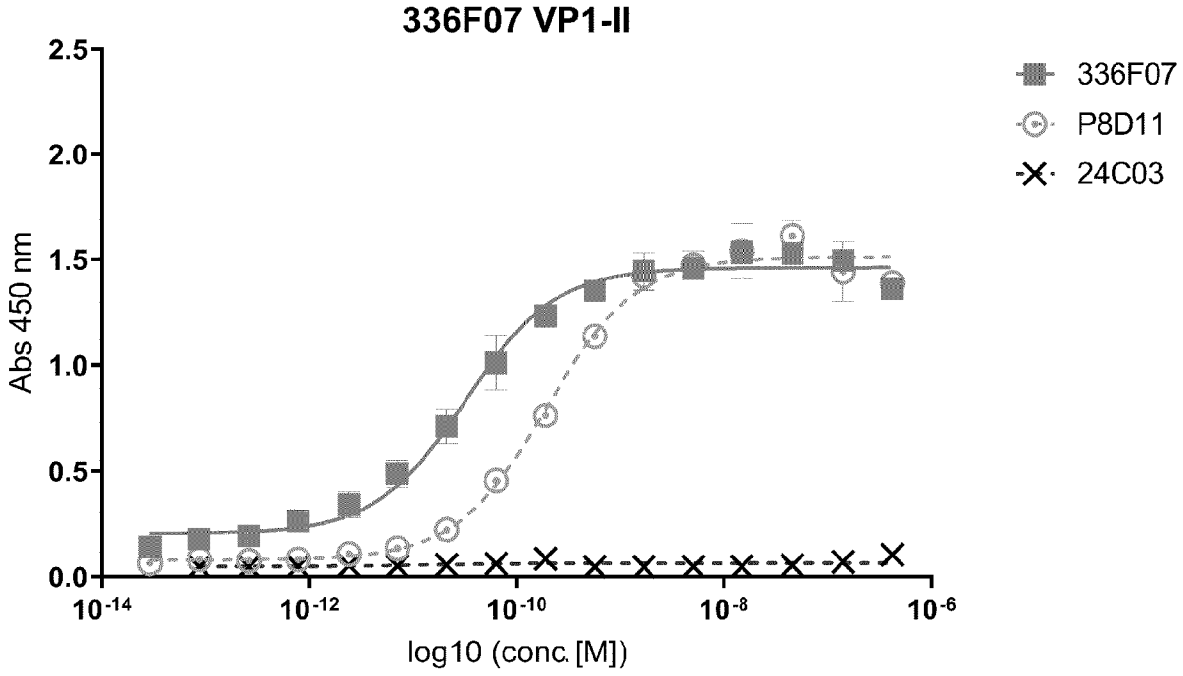


Figura 1 - continuación

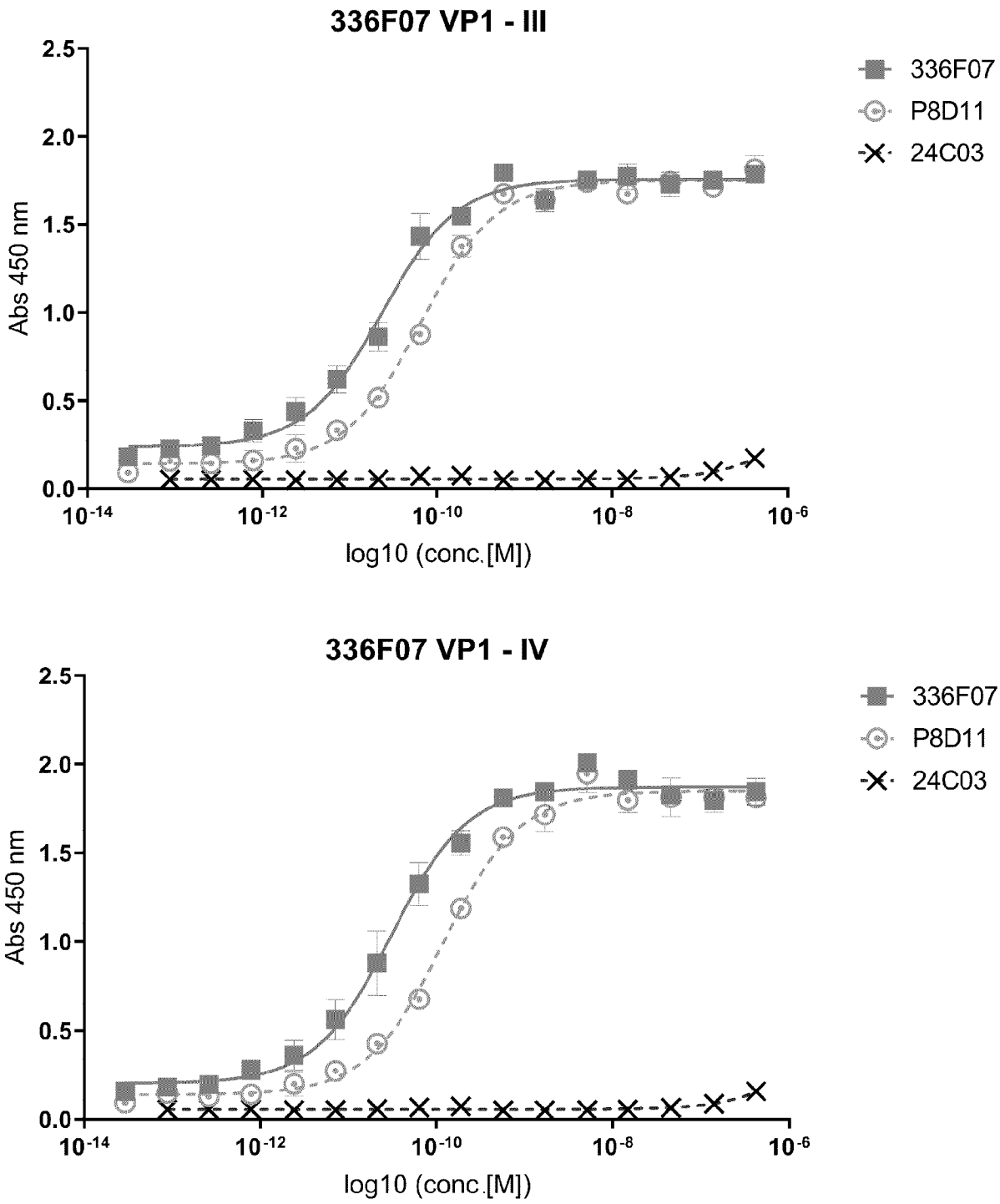


Figura 2

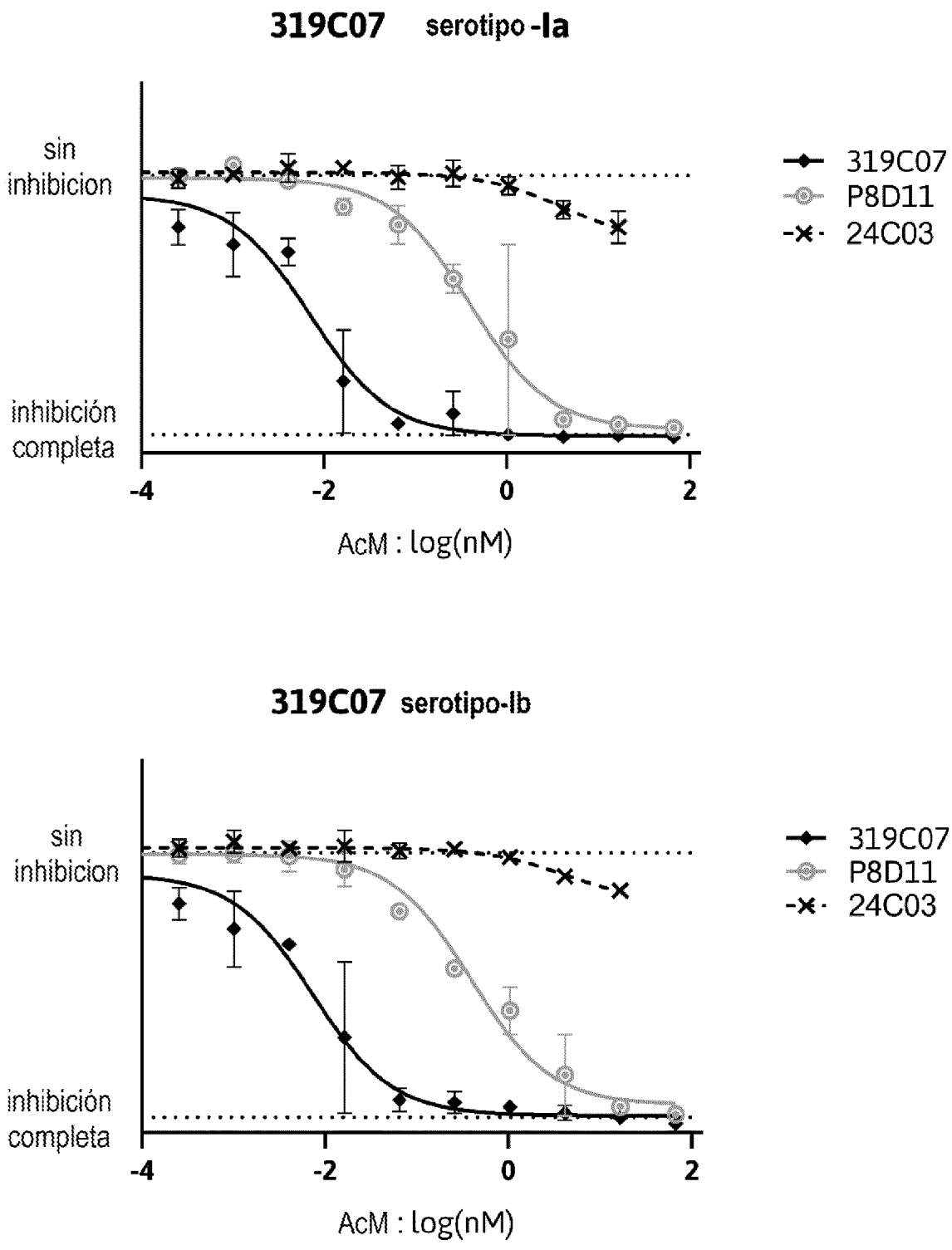

319C07 serotipo -Ia
sin inhibicion
inhibición completa
-4
-2
0
2
AcM : log(nM)
319C07
P8D11
24C03
319C07 serotipo-Ib
sin inhibicion
inhibición completa
-4
-2
0
2
AcM : log(nM)
319C07
P8D11
24C03

Figura 2 - continuación

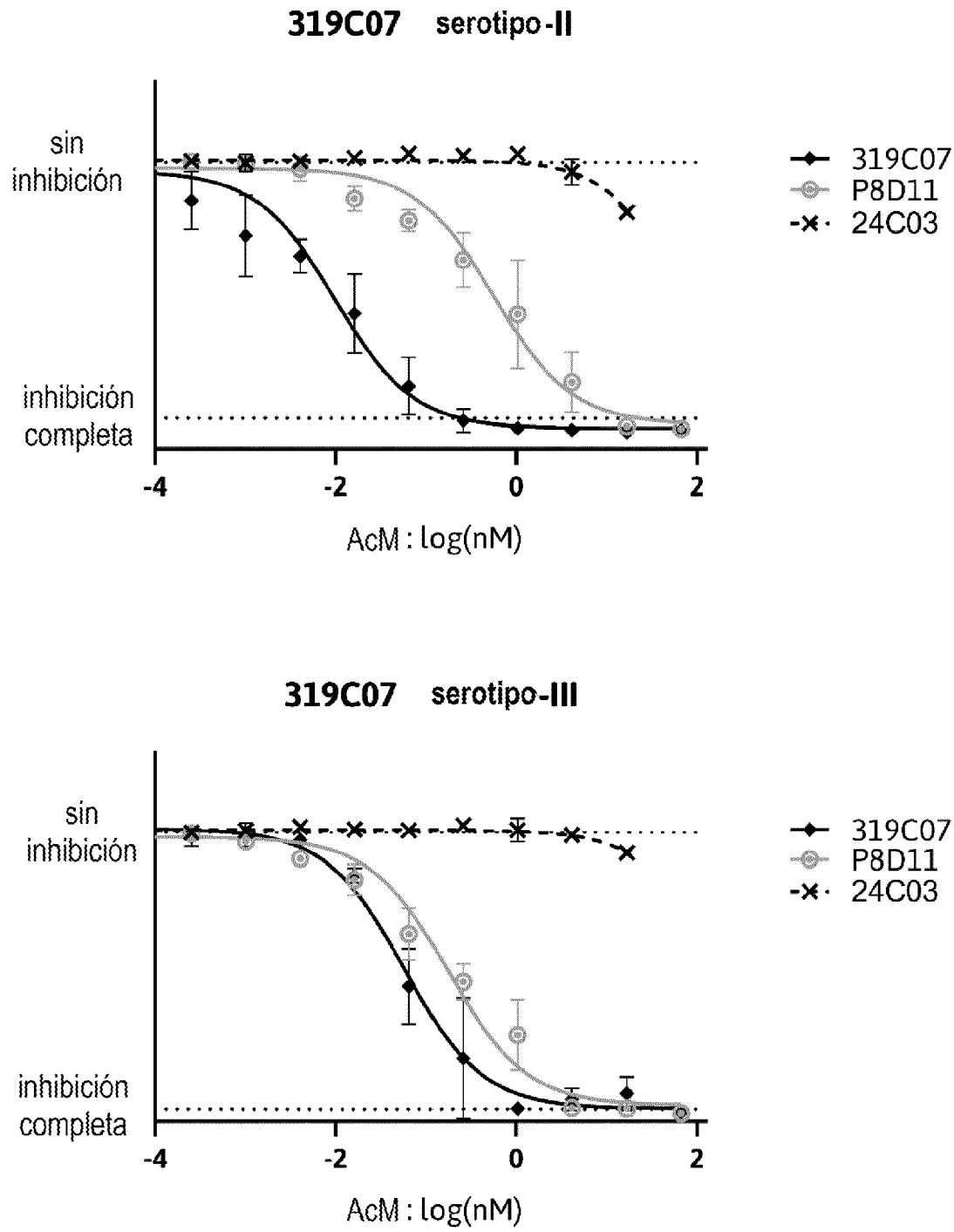


Figura 2 - continuación

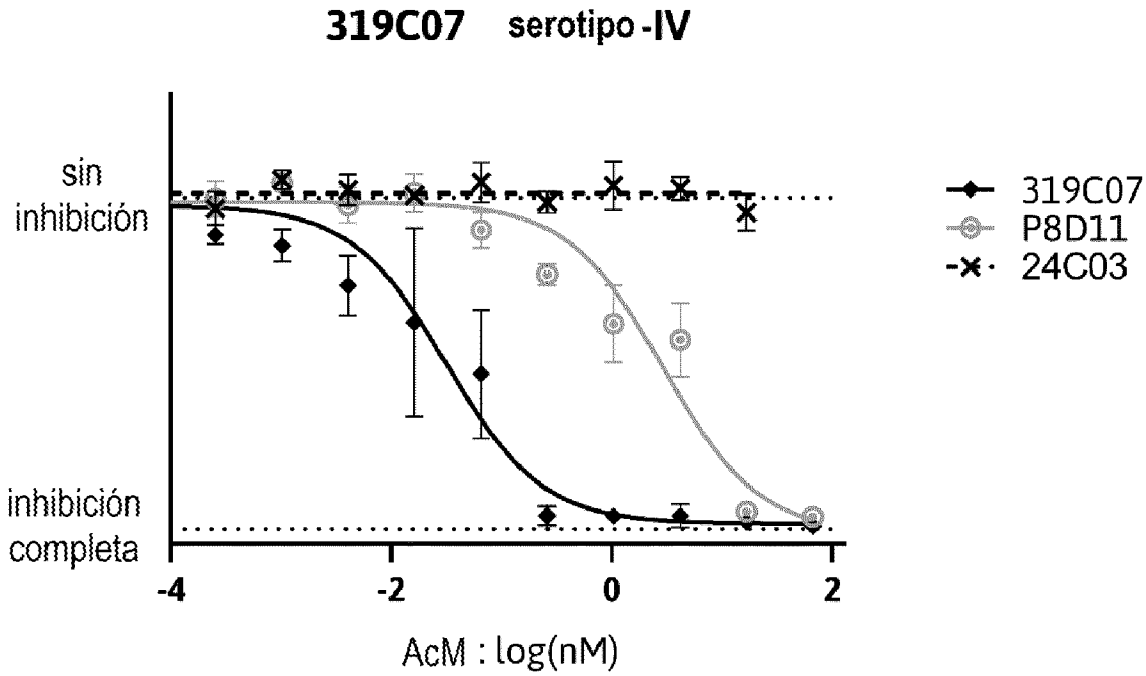


Figura 2 - continuación

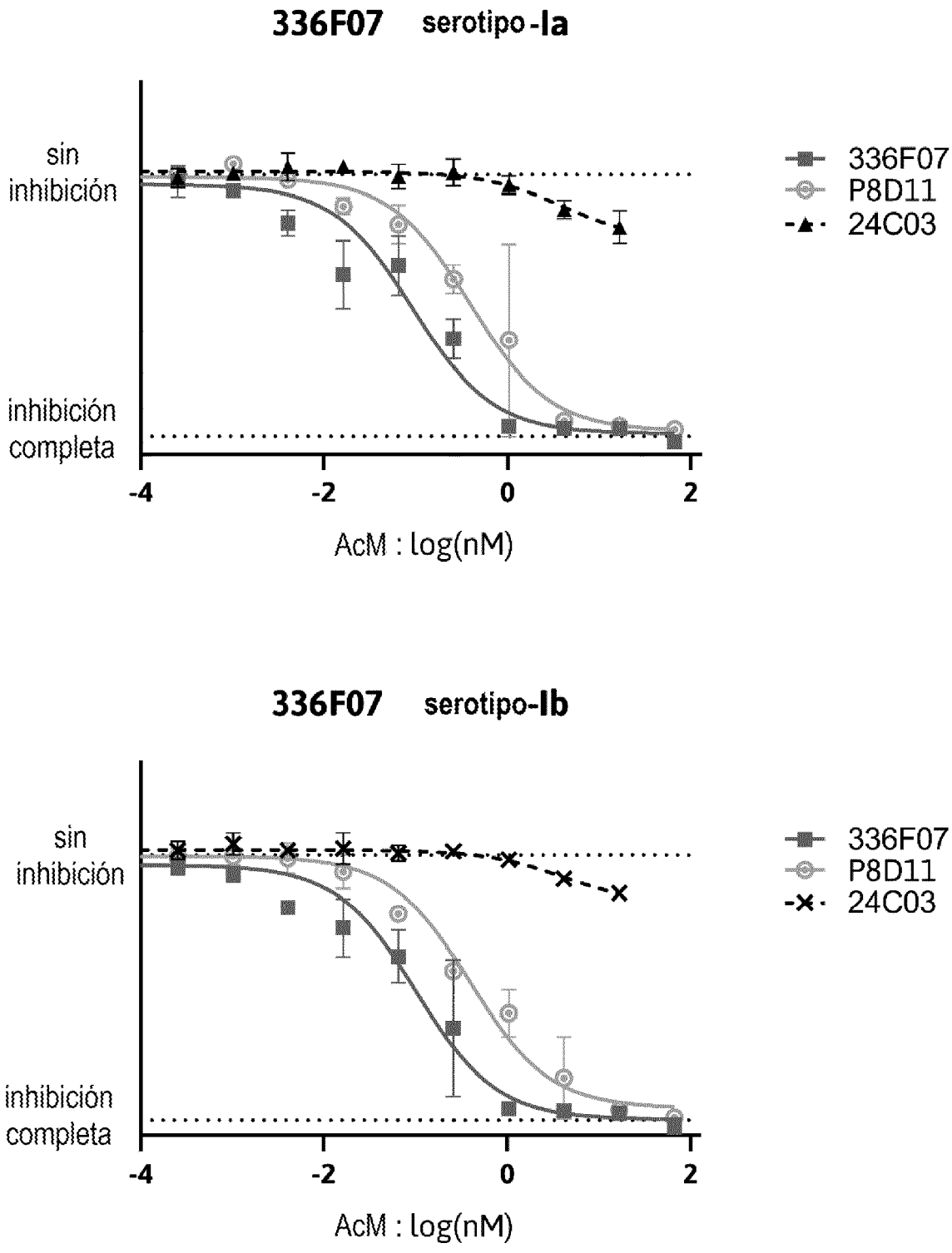


Figura 2 - continuación

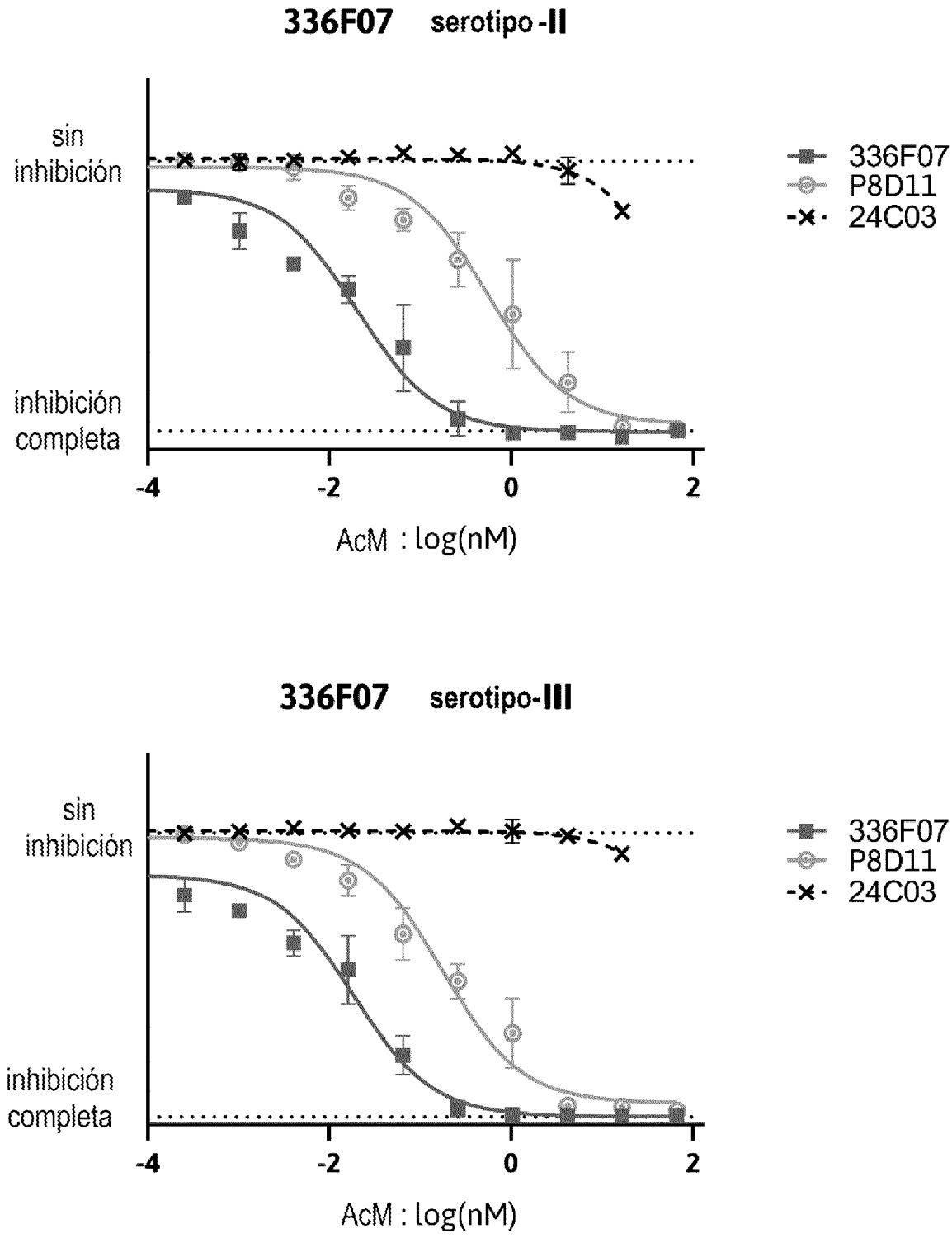


Figura 2 - continuación

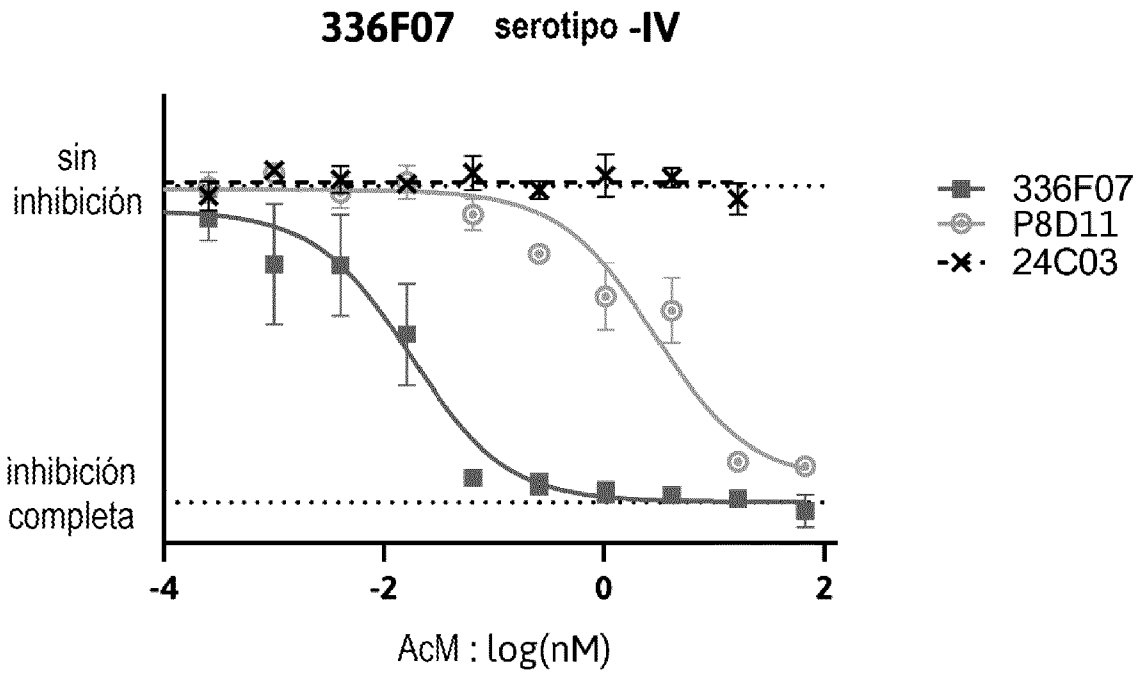


Figura 3

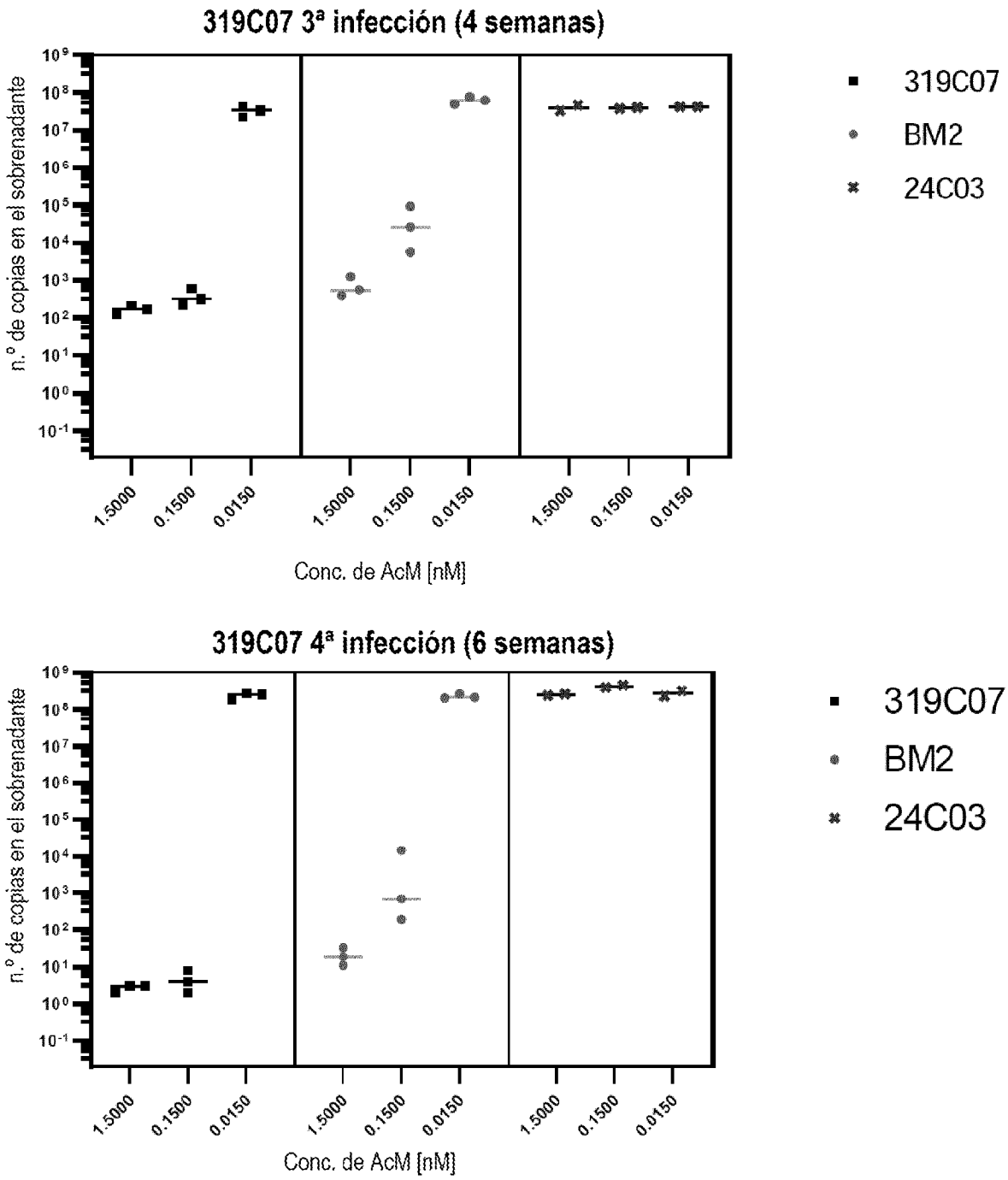

319C07 3ª infección (4 semanas)
n.º de copias en el sobrenadante
Conc. de AcM [nM]
1.5000
0.1500
0.0150
319C07
BM2
24C03
319C07 4ª infección (6 semanas)
n.º de copias en el sobrenadante
Conc. de AcM [nM]
1.5000
0.1500
0.0150
319C07
BM2
24C03

Figura 3 - continuación

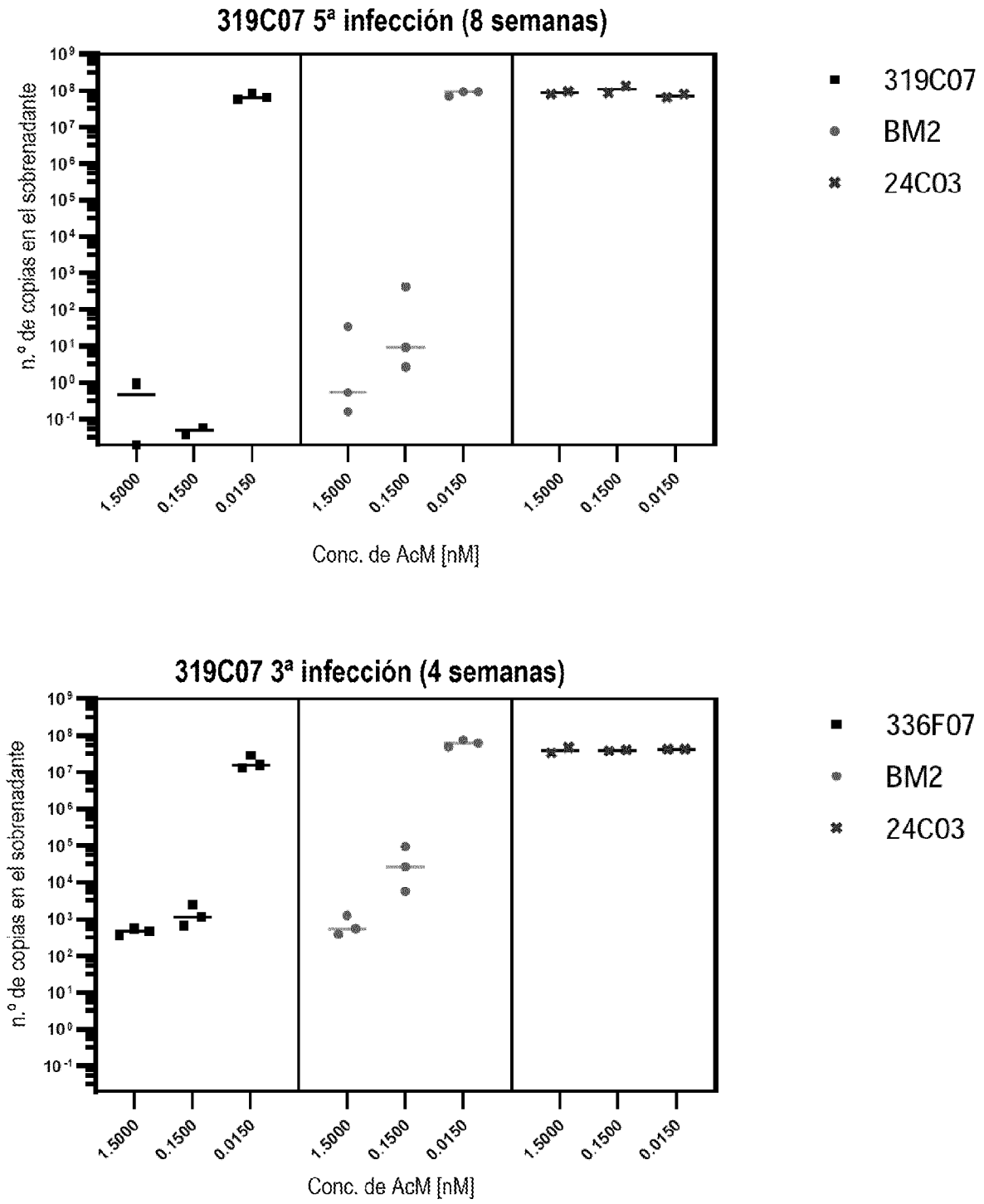


Figura 3 - continuación

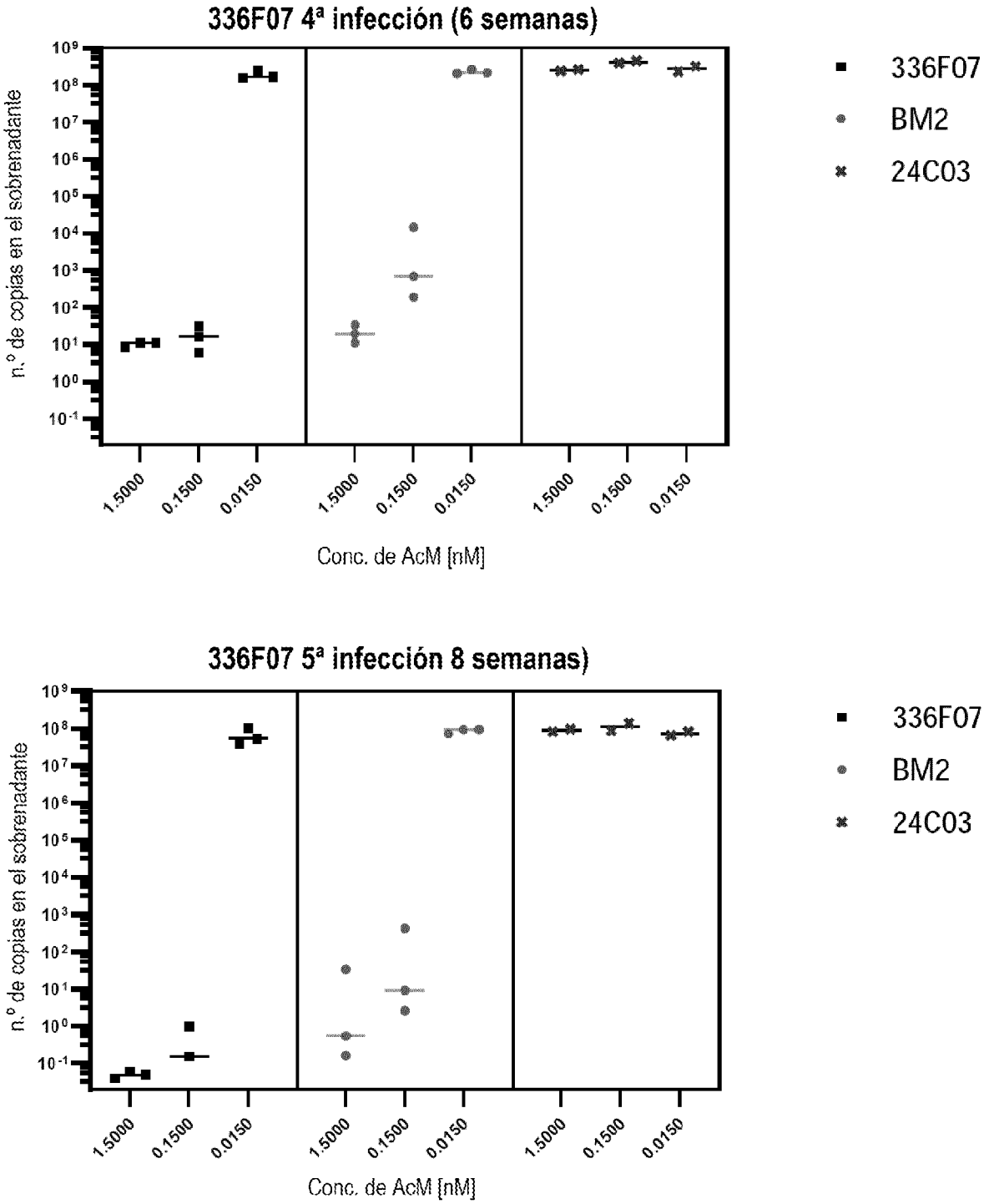
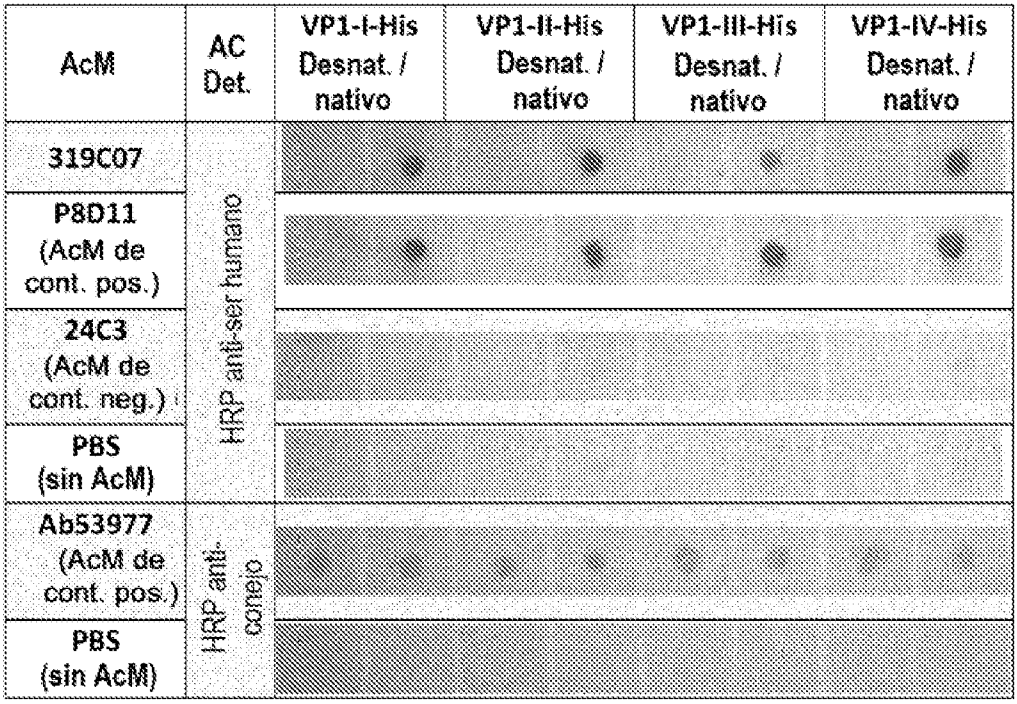


Figura 4


AcM
AC Det.
VP1-I-His Desnat. / nativo
VP1-II-His Desnat. / nativo
VP1-III-His Desnat. / nativo
VP1-IV-His Desnat. / nativo
319C07
P8D11 (AcM de cont. pos.)
24C3 (AcM de cont. neg.)
PBS (sin AcM)
HRP anti-ser humano
Ab53977 (AcM de cont. pos.)
PBS (sin AcM)
HRP anti-conejo

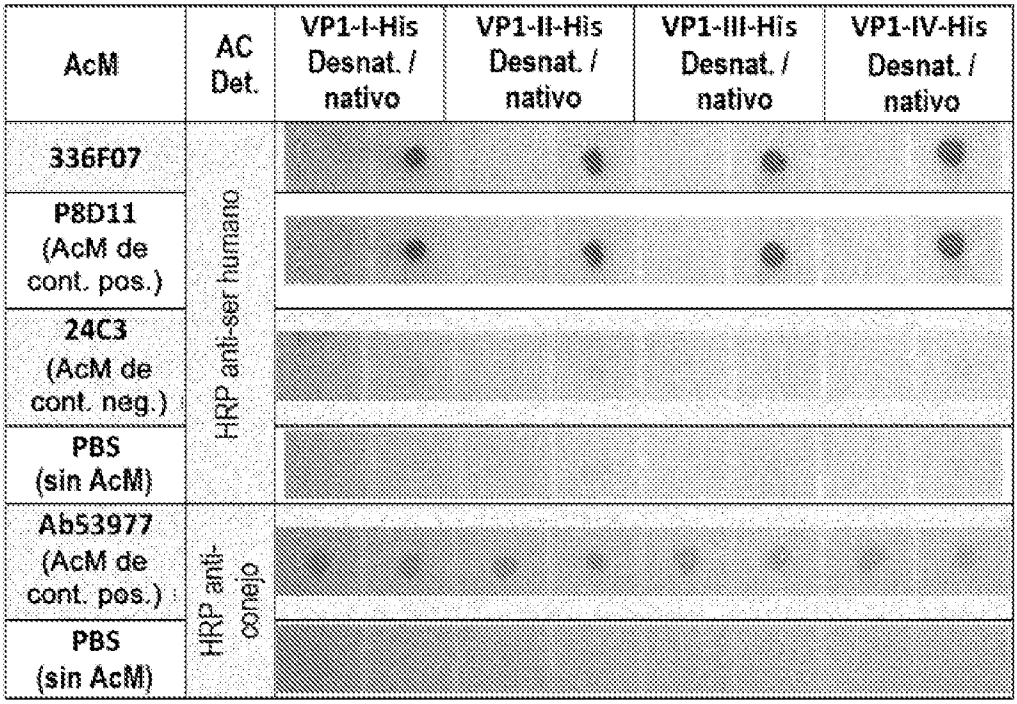
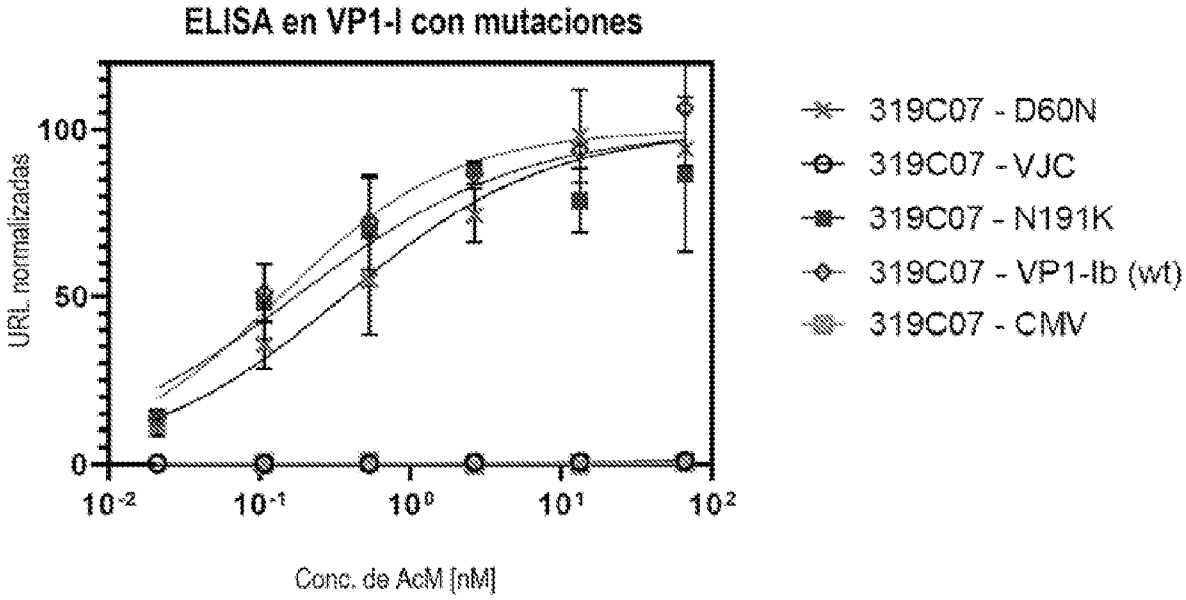

AcM
AC Det.
VP1-I-His Desnat. / nativo
VP1-II-His Desnat. / nativo
VP1-III-His Desnat. / nativo
VP1-IV-His Desnat. / nativo
336F07
P8D11 (AcM de cont. pos.)
24C3 (AcM de cont. neg.)
PBS (sin AcM)
HRP anti-ser humano
Ab53977 (AcM de cont. pos.)
PBS (sin AcM)
HRP anti-conejo

Figura 5


ELISA en VP1-I con mutaciones
URL normalizadas
100
50
0
10-2
10-1
100
101
102
Conc. de AcM [nM]
319C07 - D60N
319C07 - VJC
319C07 - N191K
319C07 - VP1-Ib (wt)
319C07 - CMV

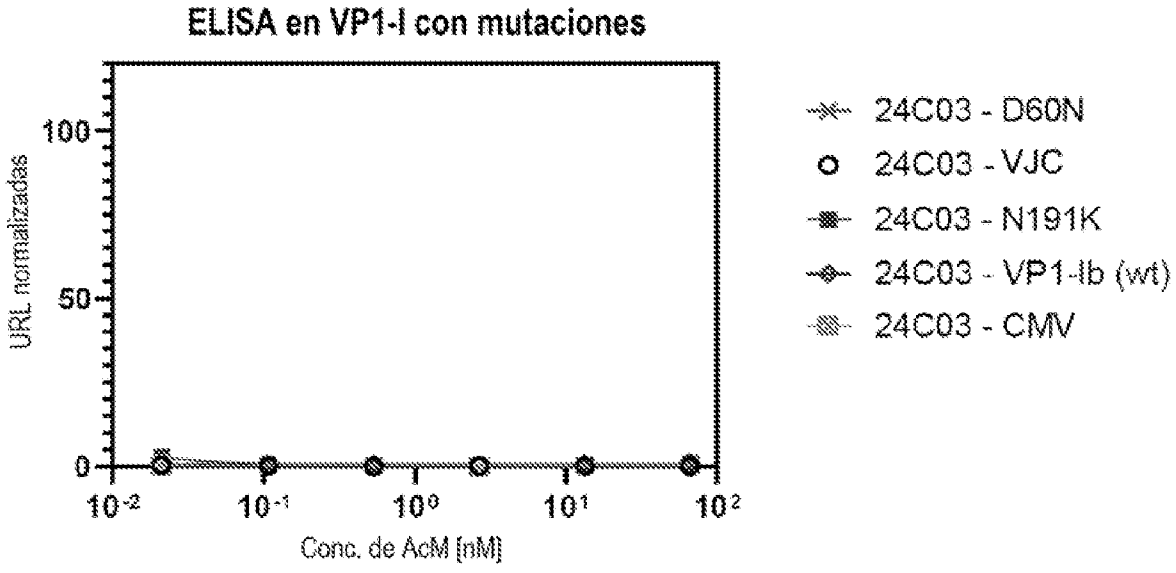
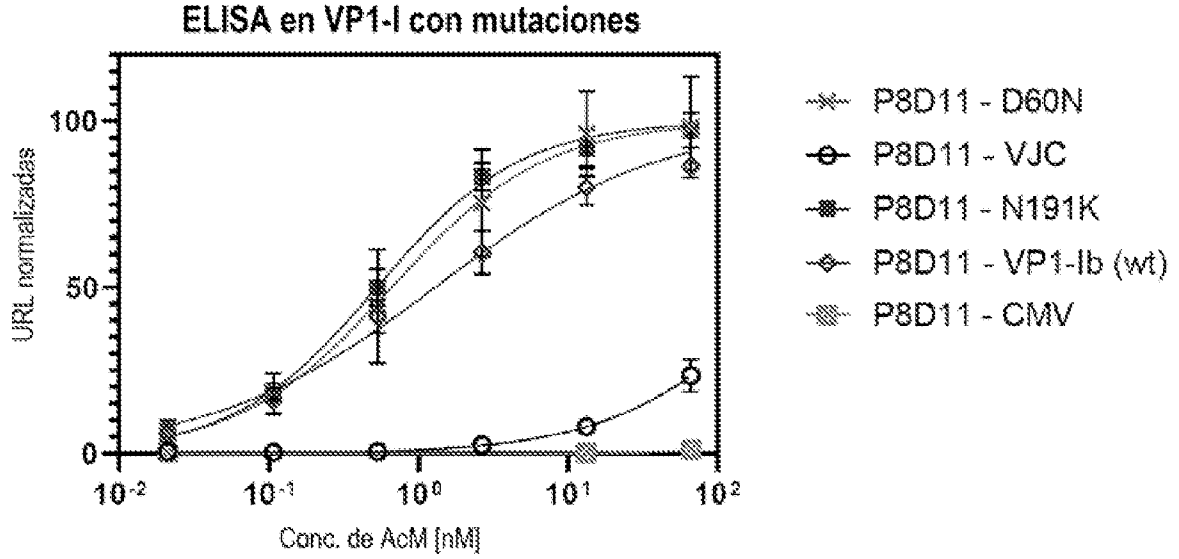

ELISA en VP1-I con mutaciones
URL normalizadas
100
50
0
10-2
10-1
100
101
102
Conc. de AcM [nM]
24C03 - D60N
24C03 - VJC
24C03 - N191K
24C03 - VP1-Ib (wt)
24C03 - CMV

Figura 5 - continuación



	D60N	N62A	E73Q	S77A	E83A	E138D	K172A	Y173A	D175A	N191K	S275A	JCV
319C07	+	*red*	+	+	+	+	+	+	*red*	+	*red*	
P8D11	+	+	+	+	+	+	*red*	+	+	+	+	*red*

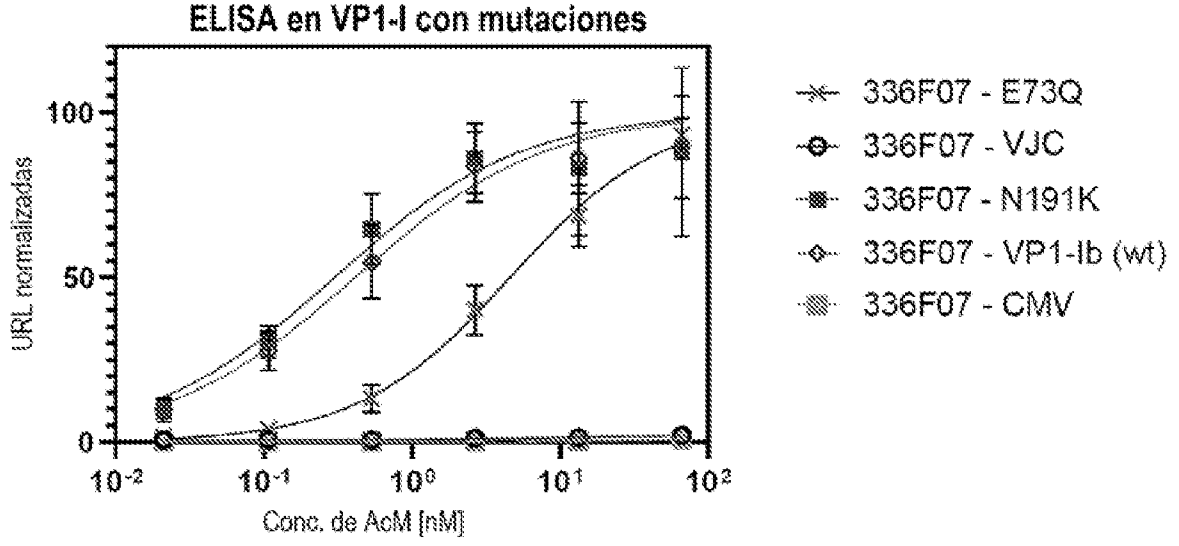
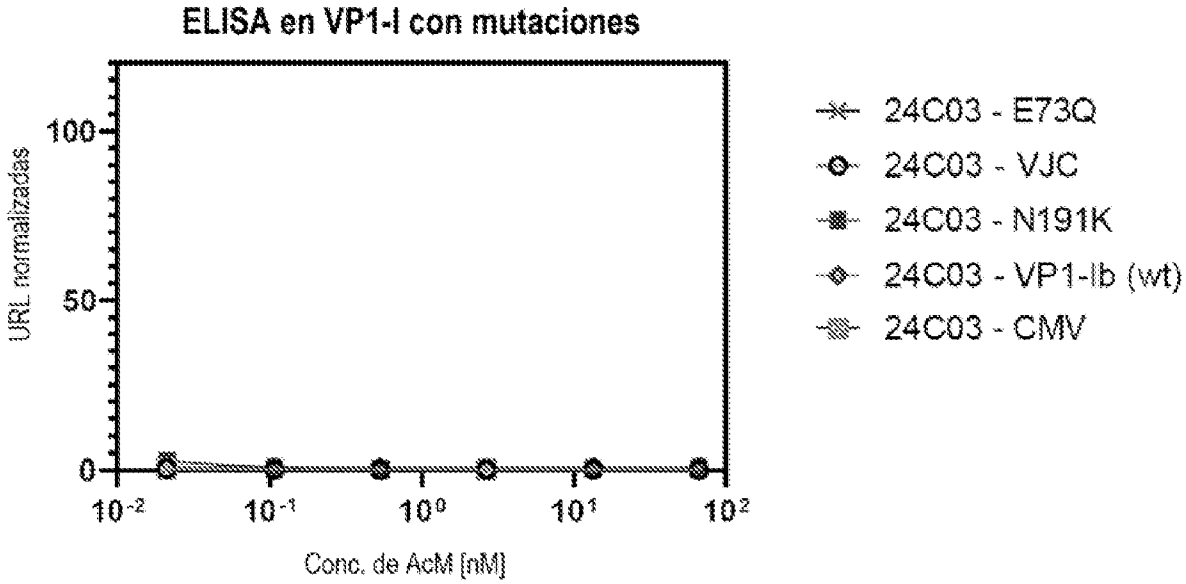
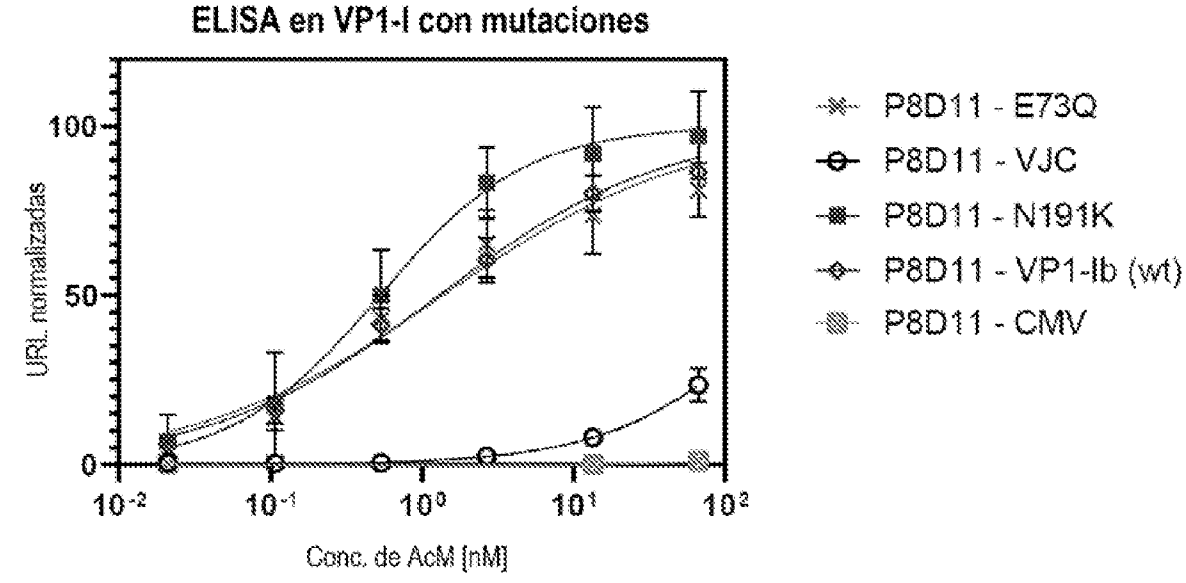


Figura 5 - continuación

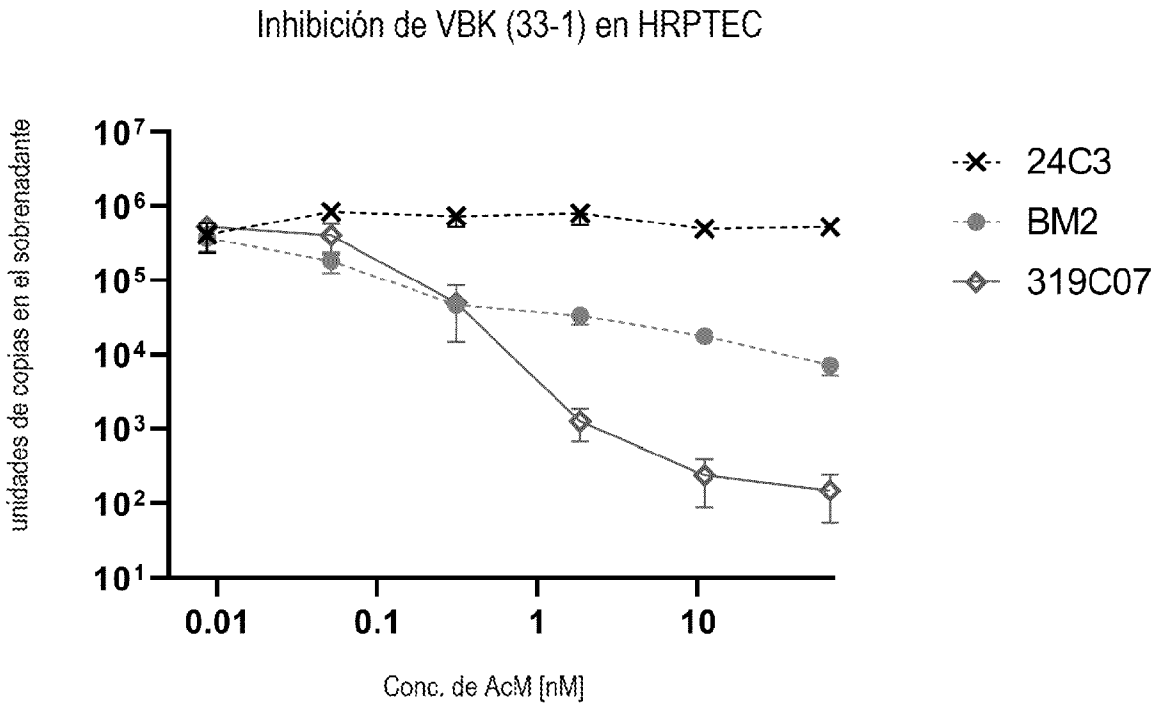




	D60N	N62A	E73Q	S77A	E83A	E138D	K172A	Y173A	D175A	N191K	S275A
336F07	+	red	red	+	+	+	+	+	+	+	+
P8D11	+	+	+	+	+	+	red	+	+	+	+

JCV
red

Figura 6


Inhibición de VBK (33-1) en HRPTEC
unidades de copias en el sobrenadante
10^7
10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
10^1
0.01
0.1
1
10
Conc. de AcM [nM]
24C3
BM2
319C07

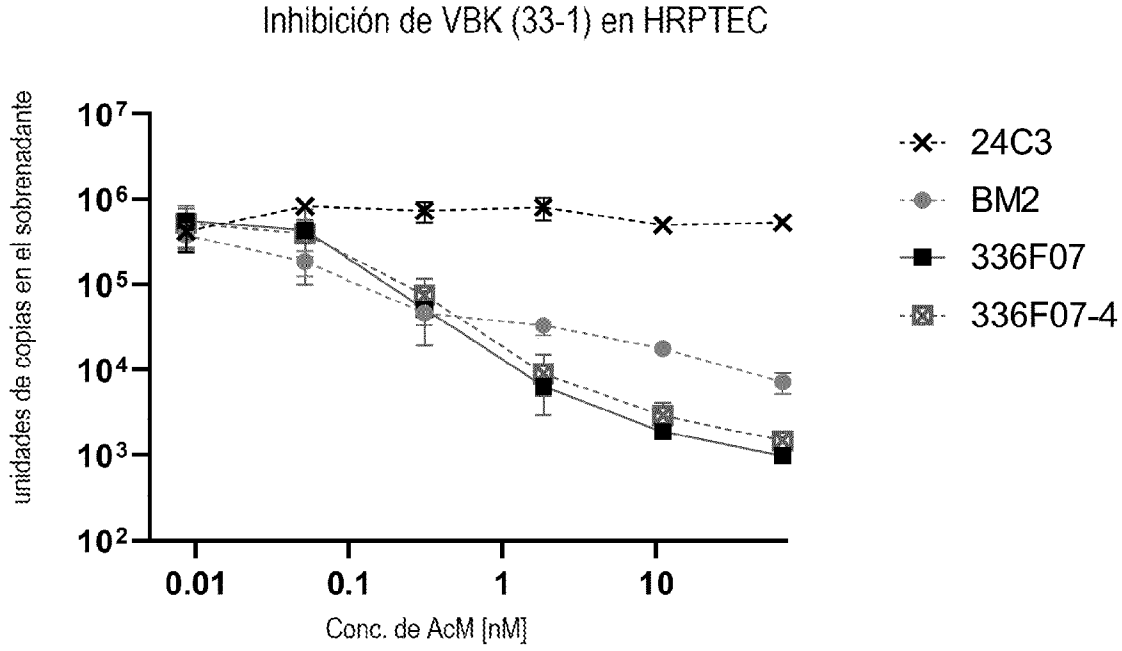

Inhibición de VBK (33-1) en HRPTEC
unidades de copias en el sobrenadante
10^7
10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
0.01
0.1
1
10
Conc. de AcM [nM]
24C3
BM2
336F07
336F07-4

Figura 7

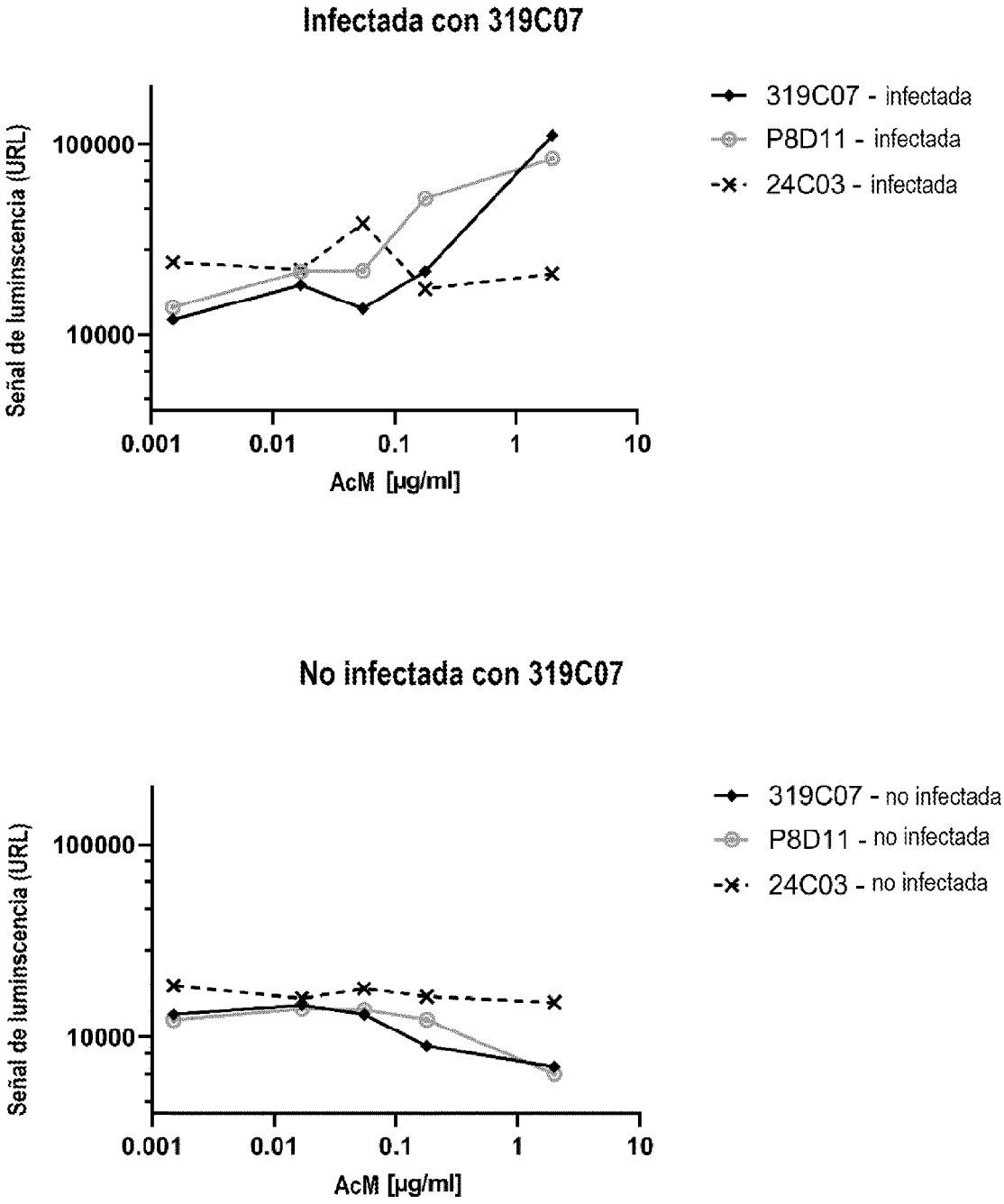

Infectada con 319C07
Señal de luminscencia (URL)
100000
10000
0.001
0.01
0.1
1
10
AcM [µg/ml]
319C07 - infectada
P8D11 - infectada
24C03 - infectada
No infectada con 319C07
Señal de luminscencia (URL)
100000
10000
0.001
0.01
0.1
1
10
AcM [µg/ml]
319C07 - no infectada
P8D11 - no infectada
24C03 - no infectada

Figura 7 - continuación

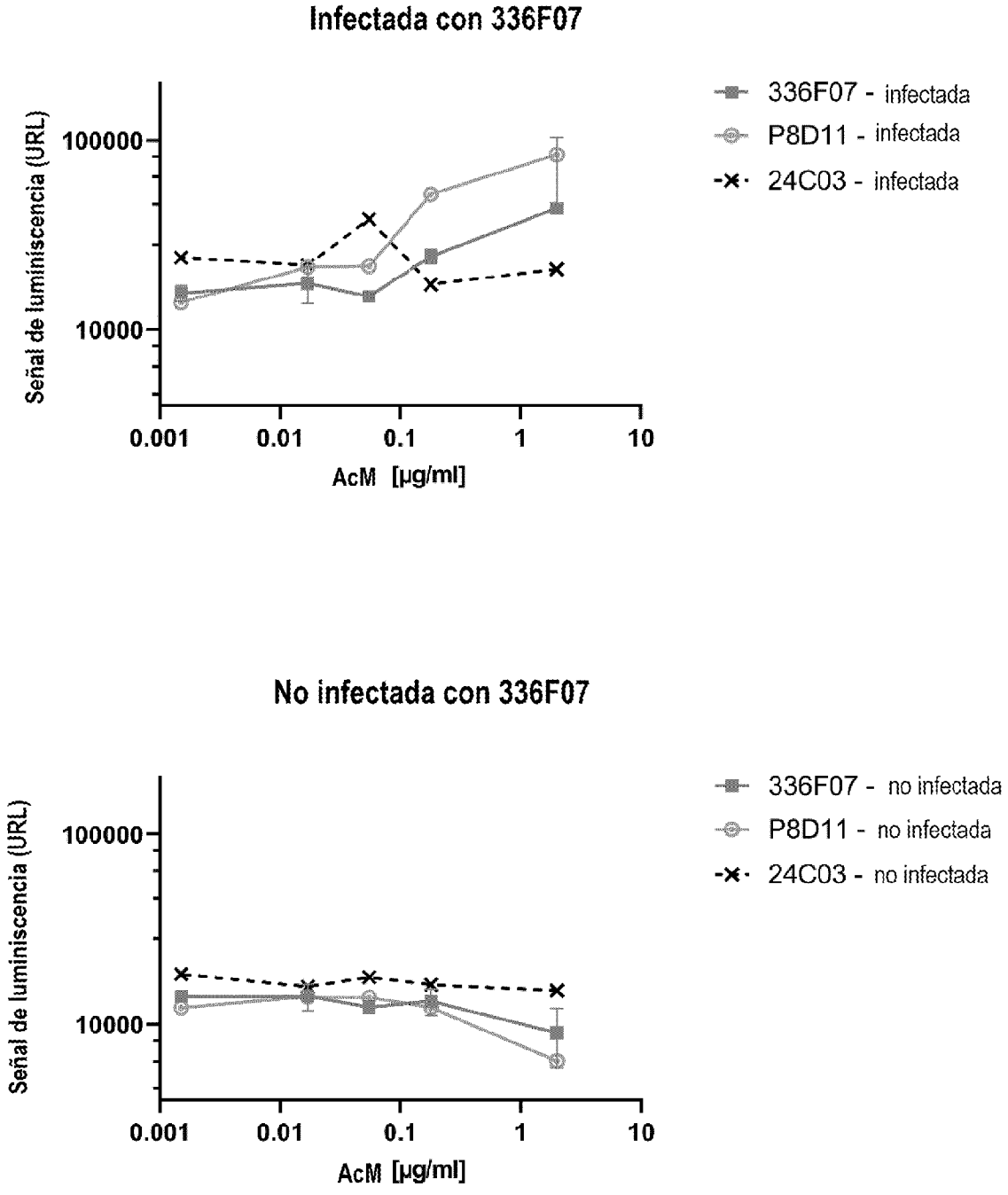
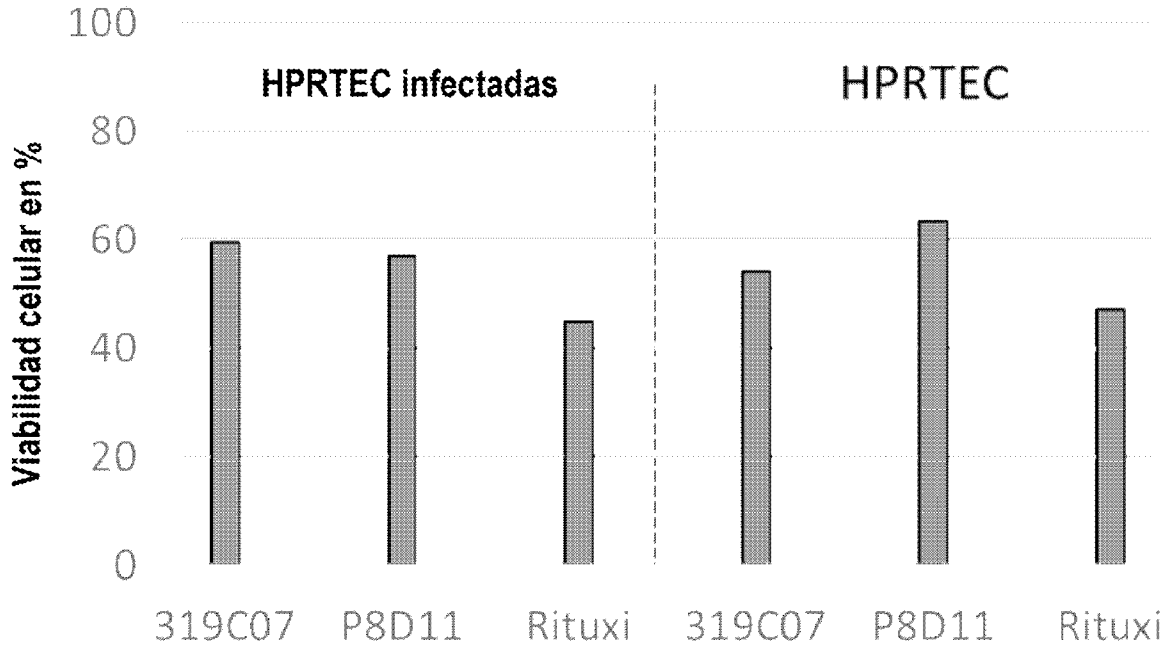
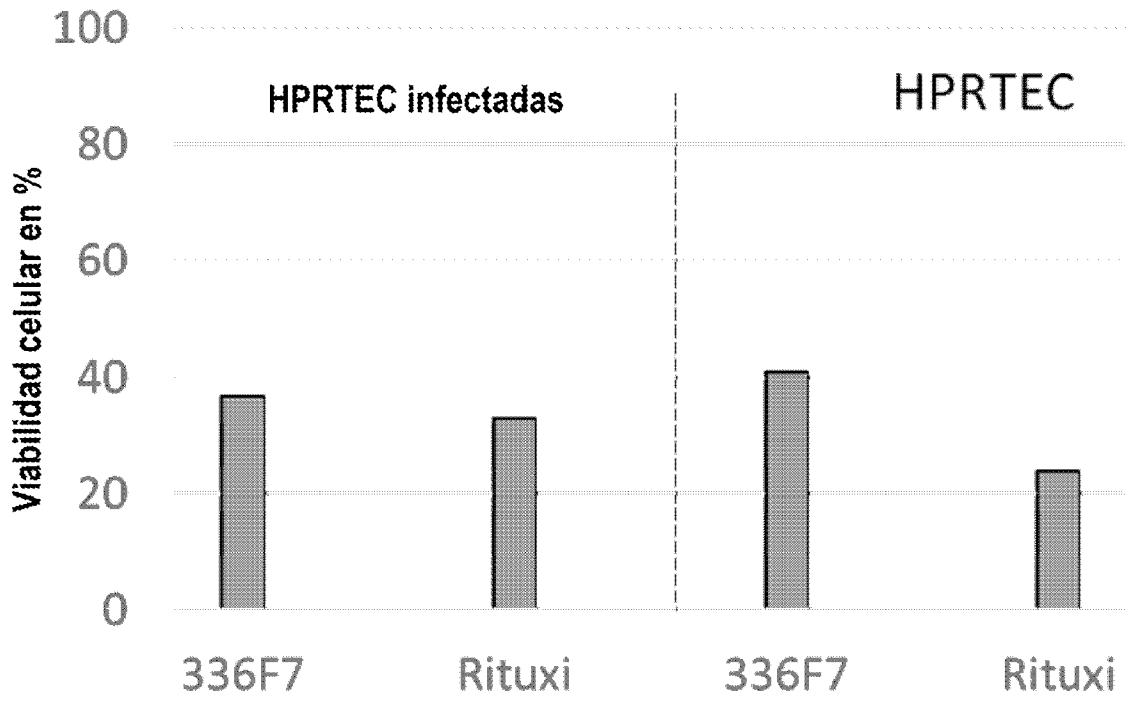


Figura 8


100
80
60
40
20
0
Viabilidad celular en %
HPRTEC infectadas
HPRTEC
319C07
P8D11
Rituxi
319C07
P8D11
Rituxi


100
80
60
40
20
0
Viabilidad celular en %
HPRTEC infectadas
HPRTEC
336F7
Rituxi
336F7
Rituxi