(11) Número de Publicação: **PT 1896073 E**

(51) Classificação Internacional:
A61K 39/395 (2013.01) ***G01N 33/567*** (2013.01)
C07H 21/04 (2013.01) ***C12P 21/06*** (2013.01)
C07K 16/24 (2013.01)

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2006.06.30**

(30) Prioridade(s): **2005.06.30 US 695831 P**

(43) Data de publicação do pedido: **2008.03.12**

(45) Data e BPI da concessão: **2013.03.06**
101/2013

(73) Titular(es):
JANSSEN BIOTECH, INC
800/850 RIDGEVIEW DRIVE HORSHAM, PA 19044 **US**

(72) Inventor(es):
MARK CUNNINGHAM **US**
RAYMOND SWEET **US**
JACQUELINE BENSON **US**
CYNTHIA DUCHALA **US**
JINQUAN LUO **US**

(74) Mandatário:
LUÍSA MARIA FERREIRA GUERREIRO
PRACETA FERNANDO NAMORA, Nº 7, 3º ESQ. 2820-598 CHARNECA DA CAPARICA **PT**

(54) Epígrafe: **COMPOSIÇÕES, MÉTODOS E APLICAÇÕES DE ANTICORPOS ANTI-IL-23**

(57) Resumo:
UM ANTICORPO ANTI-IL-23P19, INCLUINDO ÁCIDOS NUCLEICOS ISOLADOS QUE CODIFICAM PELO MENOS UM ANTICORPO ANTI-IL-23P19, VECTORES, CÉLULAS HOSPEDEIRAS, ANIMAIS TRANSGÉNICOS OU PLANTAS, E OS MÉTODOS DE PREPARAÇÃO E UTILIZAÇÃO DA MESMA TÊM APLICAÇÕES EM COMPOSIÇÕES DE DIAGNÓSTICO E/OU TERAPÊUTICO, MÉTODOS E DISPOSITIVOS.

RESUMO

COMPOSIÇÕES, MÉTODOS E APLICAÇÕES DE ANTICORPOS ANTI-IL-23

Um anticorpo anti-IL-23p19, incluindo ácidos nucleicos isolados que codificam pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19, vectores, células hospedeiras, animais transgénicos ou plantas, e os métodos de preparação e utilização da mesma têm aplicações em composições de diagnóstico e/ou terapêutico, métodos e dispositivos.

DESCRIÇÃO

COMPOSIÇÕES, MÉTODOS E APLICAÇÕES DE ANTICORPOS ANTI-IL-23

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a anticorpos, incluindo porções especificadas ou variantes, específicos para, pelo menos, uma proteína IL-23 ou um seu fragmento, bem como anticorpos anti-idiotipo, e ácidos nucleicos que codificam anticorpos anti-IL-23p19, ácidos nucleicos complementares, vectores, células hospedeiras e métodos de fabrico e utilização dos mesmos, incluindo formulações terapêuticas, administração e dispositivos.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A interleucina (IL)-12 é uma citocina heterodimérica segregada constituída por duas subunidades de proteínas glicosiladas ligadas por dissulfureto, designadas p35 e p40 pelos seus pesos moleculares aproximados. A IL-12 é produzida principalmente por células apresentadoras de antígenos e unidades de imunidade mediada por células que se ligam a um complexo de duas cadeias do receptor que se expressa na superfície das células T ou células assassinas naturais (NK). A cadeia do receptor beta-1 de IL-12, (IL-12Rß1) liga-se à subunidade p40 de IL-12, proporcionando a interação primária entre IL-12 e o seu receptor. No entanto, é a ligação de IL-12p35 da segunda cadeia do receptor, IL-12Rß2, que confere a sinalização intracelular (por exemplo fosforilação STAT4) e a ativação do receptor que produz a célula (Presky et al, 1996). A sinalização simultânea de IL-12 com a apresentação de antigénio é pensada para invocar a diferenciação de células T para o fenótipo 1 auxiliar T (Th1), caracterizado pela produção do interferão gama (IFN-y) (Trinchieri, 2003). Acredita-se

que as células Th1 m a imunidade para alguns agentes patogénicos intracelulares, gerando isotipos de anticorpos fixadores do complemento, e contribuem para a imunovigilância do tumor. Assim, a IL-12 é considerada uma componente significativa para acolher os mecanismos imunitários de defesa.

Foi descoberto que a subunidade da proteína p40 ofIL-12 pode também associar-se com uma subunidade de proteína separada, designada por p 19, para formar uma nova citoquina, a IL-23 (Oppman et al, 2000; EP1072610; US 6495667; Oppman et al, 2003; Sehy et al. 2005). A IL-23 também sinaliza através de um complexo receptor de cadeia dupla. Uma vez que a subunidade p40 é partilhada entre a IL-12 e IL-23, segue-se que a cadeia IL-12Rβ1 também é partilhada entre a IL-12 e IL-23. No entanto, é a ligação de IL-23p19 do segundo componente do complexo receptor de IL-23, IL-23R, que confere a sinalização intracelular específica de IL-23 (por exemplo, fosforilação da STAT3) e subsequente produção de IL-17 por células T (Parham et al, 2002; Aggarwal et al, 2003). Estudos recentes demonstraram que as funções biológicas de IL-23 são distintas das da IL-12, apesar da semelhança estrutural entre as duas citocinas (Langrish et al, 2005).

A regulação anormal de IL-12 e de populações de células Th1 tem sido associada com várias doenças imunomediadas uma vez que a neutralização de IL-12 por anticorpos é eficaz no tratamento de modelos animais de psoríase, esclerose múltipla (MS), artrite reumatoide, doença inflamatória do intestino, diabetes mellitus insulina-dependente (tipo 1) e uveíte (Leonard et al, 1995, Hong et al, 1999; Malfait et al, 1998; Davidson et al, 1998). No entanto, uma vez que

estes estudos têm como alvo a subunidade p40 comum, tanto a IL-12 e IL-23 foram neutralizadas *in vivo*. Portanto, não era claro se a IL-12 ou IL-23 mediaram a doença, ou se ambas as citoquinas necessitavam ser inibidas para atingir a supressão da doença. Estudos recentes têm confirmado através de ratinhos deficientes em IL-23p19 ou de neutralização de anticorpos específicos de IL-23 que a a inibição de IL-23 pode proporcionar benefício equivalente como as estratégias anti-IL-12p40 (Cua et al, 2003, Murphy et al, 2003, Benson et al 2004, US 2005/0137385). Portanto, há uma crescente evidência para o papel específico da IL-23 na doença imunomediada (p. ex. WO2004/042009 e W02004/071517) e outras doenças (por exemplo, W02004/081190). A neutralização da IL-23, sem a inibição das vias de IL-12 poderia, então, proporcionar uma terapia eficaz da doença imunomediada de impacto limitado no importante mecanismo de defesa do hospedeiro imune. Isso representaria uma melhoria significativa em relação às opções terapêuticas atuais.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção proporciona a mamíferos isolados, incluindo, sem limitação, humanos, os anticorpos que se ligam à subunidade p19 da IL-23, anticorpos anti-IL-23p19 (também referidos como anticorpos IL-23p19), imunoglobulinas, fragmentos, produtos da clivagem e outras porções especificadas e suas variantes, bem como composições de anticorpo anti-IL-23p19 ácidos nucleicos codificados ou complementares, vectores, células hospedeiras, composições, combinações, formulações, dispositivos, animais transgénicos, plantas transgénicas, e métodos para os produzir e utilizar.

Num primeiro aspecto, a invenção proporciona um anticorpo IL-23p19 isolado, em que o referido anticorpo se liga a IL-23p19 humana ou um seu fragmento a um epítopo que compreende porções da SEQ ID NO: 1 compreendendo os resíduos de aminoácidos 93-102, 93-110 e 127-137 da SEQ ID NO: 1.

Num segundo aspecto, a invenção proporciona um ácido nucleico que codifica um anticorpo da invenção.

Num terceiro aspecto, a invenção proporciona um vector de ácido nucleico compreendendo um ácido nucleico da invenção.

Num quarto aspecto, a invenção proporciona uma célula hospedeira compreendendo um ácido nucleico da invenção.

Num quinto aspecto, a invenção proporciona um método de produção de um anticorpo da invenção compreendendo a tradução de uma molécula de ácido nucleico da presente invenção, sob condições *in vitro*, *in vivo* ou *in situ*, de tal modo que o anticorpo IL-23p19 seja expresso em quantidades detectáveis ou recuperáveis.

Num sexto aspecto, a invenção proporciona uma composição compreendendo um anticorpo da invenção e pelo menos um transportador ou diluente farmaceuticamente aceitável.

Num sétimo aspecto, a invenção proporciona um dispositivo médico compreendendo um anticorpo da invenção.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

A Figura 1 mostra que anticorpos IL23p19 especificamente ligados ao monómero hrIL-23 e não ao hrIL-12 ou hrp40. Um anticorpo p40 anti-IL12/IL23 é mostrado para se ligar a IL-23, IL-12 e ao monómero p40. Um anticorpo anti-IL12 (20C2) é mostrado para ligar apenas a IL-12.

A Figura 2 mostra a ligação de IL-23 para os anticorpos IL-23p19 imobilizados em placa da invenção em que todos os quatro anticorpos testados mostram curvas de ligação semelhantes.

A Figura 3A mostra que os anticorpos C1249 e C1269 bloqueiam normalmente a ligação a IL-23/IL-23R.

A Figura 3B mostra que os anticorpos C1273 e C1275 bloqueiam normalmente a ligação a IL-23/IL-23R.

A Figura 4 mostra que os anticorpos IL-23p19 da invenção inibem a produção de hrIL-23 mediada por IL-17.

A Figura 5 mostra os efeitos das mutações de IL-23 na ligação de C1249, C1269 e CNTO 209.

A Figura 6 mostra um modelo estrutural de IL-23 humana numa representação por fitas.

A Figura 7 mostra os resultados da análise de competição de anticorpos C1249 e C1269.

A Figura 8A mostra uma análise ELISA de proteínas mutantes IL-23 ligadas ao anticorpo C1249.

A Figura 8B mostra uma análise ELISA de proteínas mutantes IL-23 ligadas ao anticorpo C1269.

A Figura 9 mostra uma comparação da atividade de ligação relativa de proteínas mutantes IL-23 ligadas aos anticorpos C1249, C1269 e controlo.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

A presente invenção proporciona anticorpos anti-IL-23p19 isolados, recombinantes e/ou sintéticos, incluindo, sem limitação, mamíferos (por exemplo, anticorpos humanos) e anticorpos anti-idiotípicos IL-23p19 dos mesmos, bem como as composições e as moléculas que codificam o ácido nucleico compreendendo pelo menos um polinucleótido que codifica pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19, ou anticorpo anti-idiotipo. A presente invenção inclui adicionalmente, mas não está limitada a, métodos de fabrico e utilização de tais ácidos nucleicos e anticorpos e anticorpos anti-idiotipo, incluindo composições, métodos e dispositivos de diagnóstico e terapêutica.

Tal como aqui utilizado, um "anticorpo anti-IL-23p19," "anticorpo IL-23p19", "porção de anticorpo anti-IL-23p19," ou "fragmento de anticorpo anti-IL-23p19" e/ou " variante de anticorpo anti-IL-23p19 "e semelhantes incluem qualquer proteína ou péptido contendo molécula que compreende pelo menos uma porção de uma molécula de imunoglobulina, tal como, mas não limitada a, pelo menos uma região determinante de complementaridade (CDR) de uma cadeia pesada ou leve ou uma porção de ligando de ligação, uma região variável de cadeia pesada ou de cadeia leve, uma região constante de cadeia pesada ou de cadeia leve, uma região de estrutura, ou qualquer porção das mesmas, ou pelo menos uma porção de um receptor de IL-23 ou proteína de ligação, que pode ser incorporada num anticorpo da presente invenção. Tal anticorpo afecta ainda opcionalmente um

ligando específico, tal como, mas não limitado a, onde tal anticorpo modula, diminui, aumenta, antagoniza, agoniza, mitiga, alivia, bloqueia, inibe, anula e/ou interfere com, pelo menos, uma atividade da IL-23 ou uma ligação, ou com a actividade do receptor de IL-23 ou de ligação, *in vitro*, *in situ* e/ou *in vivo*. Como um exemplo não limitativo, um anticorpo anti-IL-23p19 adequado, porção especificada ou variante da presente invenção pode ligar pelo menos uma molécula de IL-23, ou porções especificadas, variantes ou domínios da mesma. Um anticorpo anti-IL-23p19 adequado, porção especificada ou variante pode também afectar opcionalmente, pelo menos, uma atividade de IL-23p19 ou função, tal como, mas não limitado a, ARN, ADN, ou síntese de proteína, libertação de IL-23, sinalização do receptor de IL-23, membrana de clivagem de IL-23, atividade de IL-23, produção e/ou síntese de IL-23.

O termo "anticorpo" pretende ainda abranger anticorpos, fragmentos de digestão, porções especificadas e as suas variantes, incluindo, sem limitação, miméticos de anticorpo ou compreendendo porções de anticorpos que imitam a estrutura e/ou função de um anticorpo, ou fragmento ou porção especificada, incluindo, sem limitação, anticorpos de cadeia simples, anticorpos de domínios simples, e seus fragmentos. Fragmentos funcionais incluem fragmentos de ligação ao antigénio que se ligam a IL-23p19 humano. Por exemplo, fragmentos de anticorpos capazes de se ligarem a IL-23p19, ou partes do mesmo, incluindo, mas não limitado a, fragmentos Fab (por exemplo, por digestão com papaína), Fab' (por exemplo, por digestão com pepsina e redução parcial) e $F(ab')_2$ (por exemplo, por digestão com pepsina), facb (por exemplo, por digestão com plasmina), pFc'(por exemplo, por digestão com pepsina ou plasmina), Fd (por

exemplo, por digestão com pepsina, redução parcial e reagregação), Fv ou scFv (por exemplo, por técnicas de biologia molecular), estão abrangidas pela invenção (ver, por exemplo, Colligan, Immunology, supra).

Tais fragmentos podem ser produzidos por clivagem enzimática, técnicas sintéticas ou recombinantes, como é conhecido na técnica e/ou como aqui descrito. Os anticorpos também podem ser produzidos numa variedade de formas truncadas, usando genes de anticorpos nos quais um ou mais codões de terminação foram introduzidos a montante do local de paragem natural. Por exemplo, um gene que codifica uma combinação de uma porção de cadeia pesada de $F(ab')_2$ pode ser concebido para incluir sequências de ADN que codificam o domínio CH_1 e/ou a região de dobradiça da cadeia pesada. As várias porções de anticorpos podem ser unidas quimicamente por técnicas convencionais, ou podem ser preparadas como uma proteína contígua utilizando técnicas de engenharia genética.

O termo "anticorpo humano", tal como aqui utilizado, pretende incluir anticorpos com regiões variáveis e constantes derivadas de correspondendo estreitamente as sequências de imunoglobulina da linha germinativa humana. Os anticorpos humanos da invenção podem incluir resíduos de aminoácidos não codificados pelas sequências de imunoglobulinas da linha germinativa humana (por exemplo, mutações introduzidas por mutagénese ao acaso, ou específica do local *in vitro* ou por mutação somática *in vivo*). Assim, tal como é aqui utilizado, o termo "anticorpo humano" refere-se a um anticorpo no qual substancialmente todas as partes da proteína (por exemplo, CDR, estrutura C_L, domínios C_H (por exemplo, C_H1, C_H2, C_H3), a dobradiça,

(V_L, V_H)) é substancialmente semelhante a um anticorpo da linha germinativa humana. Os anticorpos humanos têm sido classificados em grupos com base nas suas similaridades das sequência de aminoácidos, ver, por exemplo http://people.cryst.bbk.ac.uk/~bcg07s/. Assim, usando uma pesquisa de semelhança de sequência, um anticorpo com a sequência linear semelhante pode ser escolhido como um molde para criar "anticorpos humanizados".

"Humanização" (também chamada remodelação ou enxerto CDR) é agora uma técnica bem estabelecida para reduzir a imunogenicidade dos anticorpos monoclonais (mAb) a partir de fontes xenogénicas (vulgarmente roedores) e para melhorar as funções efectoras (ADCC, ativação do complemento, ligação ao C1q). A engenharia de mAb foi concebida utilizando as técnicas de biologia molecular, no entanto, o enxerto CDR simples de regiões determinantes da complementaridade (CDRs) do roedor em estruturas humanas frequentemente resulta em perda de afinidade de ligação e/ou especificidade do mAb original. De modo a humanizar um anticorpo, a concepção do anticorpo humanizado inclui variações, tais como substituições de aminoácidos conservativos nos resíduos das CDR e substituição posterior de resíduos a partir do roedor mAb para as regiões da estrutura humana (mutações posteriores). As posições podem ser discernidas ou identificadas por comparação de sequência para análise estrutural, ou por análise de um modelo de homologia da estrutura 3D das regiões variáveis. O processo de maturação de afinidade tem usado recentemente bibliotecas de fagos para variar os aminoácidos nas posições escolhidas. Da mesma forma, várias abordagens têm sido utilizadas para selecionar as estruturas humanas mais adequadas para enxerto nas CDR de roedores. Como as bases

de dados de parâmetros conhecidas para estruturas de anticorpos aumentam, o mesmo acontece com a sofisticação e o refinamento destas técnicas. Podem ser usadas sequências de consenso ou da linha germinativa de um único anticorpo ou fragmentos das sequências estruturais dentro de cada região variável de cadeia leve ou cadeia pesada de vários mAbs humanos diferentes. Outra abordagem à humanização é modificar apenas os resíduos da superfície da sequência do roedor com os resíduos mais comuns encontrados em mAbs humanos o que tem sido denominado "repavimentação" ou "folheado". Sequências de Ig humanas conhecidas são divulgadas, por exemplo, em www.ncbi.nih.gov/entrez/query.fcgi; www.ncbi.nih.gov/igblast; www.atcc.org/phage/hdb.html; www.kabatdatabase.com/top.html; www.appliedbiosystems.com; www.biodesign.com; www.antibody.bath.ac.uk; www.unizh.ch; www.cryst.bbk.ac.uk/~~ubcg07s; Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health (1983). Muitas vezes, o anticorpo humano ou humanizado é substancialmente não imunogénico em humanos.

Da mesma forma, os anticorpos designadamente de primatas (macaco, babuíno, chimpanzé, etc.), roedor (rato, ratazana, coelho, porquinho da índia, hamster, e similares) e outros anticorpos específicos de mamíferos designadamente espécies, sub-género, género, sub-família e família. Além disso, os anticorpos quiméricos podem incluir qualquer combinação dos anteriores. Tais mudanças ou variações, opcionalmente e, de preferência, mantêm ou reduzem a imunogenicidade em humanos ou outras espécies em relação aos anticorpos não-modificados. Assim, um anticorpo humano é distinto de um anticorpo quimérico ou humanizado.

É salientado que um anticorpo humano pode ser produzido por um animal não humano ou uma célula procariótica ou eucariótica que seja capaz de expressar a imunoglobulina humana funcionalmente rearranjada (por exemplo, genes de cadeia pesada e/ou de cadeia leve).

Além disso, quando um anticorpo humano é um anticorpo de cadeia única ou de domínio simples, pode compreender um péptido de ligação que não é encontrado em anticorpos humanos nativos. Por exemplo, um Fv pode compreender um péptido ligante, tal como duas a cerca de oito glicinas ou outros resíduos de aminoácidos, que ligam a região variável da cadeia pesada e a região variável da cadeia leve. Tais péptidos ligantes são considerados como sendo de origem humana.

Anticorpos bioespecíficos, heteroespecíficos, heteroconjugados ou semelhantes podem também ser usados como anticorpos monoclonais, preferivelmente humanos ou humanizados, anticorpos que possuem especificidades de ligação para pelo menos dois antigénios diferentes. No presente caso, uma das especificidades de ligação é pelo menos uma subunidade da proteína IL-23p19, a outra é para qualquer outro antigénio. Os métodos para produzir anticorpos biespecíficos são conhecidos na arte. Tradicionalmente, a produção recombinante de anticorpos bioespecíficos baseia-se na co-expressão de dois pares de imunoglobulina de cadeia pesada-cadeia leve, onde as duas cadeias pesadas têm especificidades diferentes (Milstein e Cuello, Nature 305:537 (1983)). Devido ao arranjo aleatório das cadeias pesadas e leves de imunoglobulina, estes hibridomas (quadromas) produzem uma mistura potencial de 10 moléculas de anticorpo diferentes, das quais apenas uma tem

a estrutura bioespecífica correta. A purificação da molécula correta é usualmente realizada por etapas de cromatografia de afinidade. Procedimentos semelhantes são divulgados, por exemplo, em WO 93/08829, Patentes 6210668, 6193967, 6132992, 6106833, 6060285, 6037453, 6010902, 5989530, 5959084, 5959083, 5932448, 5833985, 5821333, 5807706, 5643759, 5601819, 5582996, 5496549, 4676980, WO 91/00360, WO 92/00373, EP 03089, Traunecker et al. EMBO J. 10:3655 (1991), Suresh et al., Methods in Enzymology 121:210 (1986).

Os anticorpos anti-IL-23p19 úteis nos métodos e nas composições da presente invenção podem, opcionalmente, ser caracterizados por ligação de elevada afinidade à IL-23p19, e, opcionalmente e, de preferência, possuindo baixa toxicidade. Em particular, um anticorpo, fragmento especificado ou variante da invenção, em que os componentes individuais, tais como a região variável, a região constante e a estrutura, individualmente e/ou colectivamente, opcionalmente e preferencialmente possuem baixa imunogenicidade, são úteis na presente invenção. Os anticorpos que podem ser utilizados na invenção são facultativamente caracterizados pela sua capacidade para tratar pacientes durante períodos prolongados com atenuação dos sintomas mensurável e toxicidade baixa e/ou aceitável. Baixa imunogenicidade ou aceitável e/ou afinidade elevada, bem como outras propriedades adequadas, podem contribuir para os resultados terapêuticos atingidos. "Baixa imunogenicidade" é aqui definida como a incidência de níveis de anticorpos tituláveis com o anticorpo anti-IL-23p19 em pacientes tratados com o anticorpo anti-IL-23p19, como ocorre em menos de 25% dos doentes tratados, de preferência, em menos de 10% dos pacientes tratados com a

dose recomendada para o curso de terapia recomendada durante o período de tratamento.

Os ácidos nucleicos isolados da presente invenção podem ser utilizados para a produção de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 ou de um seu variante especificado, que podem ser utilizados para medir ou produzir efeito numa célula, tecido, órgão ou animal (incluindo mamíferos e seres humanos), para diagnosticar, monitorizar, modular, tratar, aliviar, ajudar a prevenir a incidência de, ou reduzir os sintomas de, pelo menos, uma condição relacionada com IL-23, selecionada de entre, mas não se limitando a, pelo menos, um distúrbio imune ou doença, distúrbio ou doença cardiovascular, doença infecciosa, maligna e/ou neurológica, ou outra condição relacionada com IL-23 conhecida ou específica.

Tal método pode compreender a administração de uma quantidade eficaz de uma composição ou de uma composição farmacêutica compreendendo pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 a uma célula, tecido, órgão, animal ou doente em necessidade de tal modulação, tratamento, redução, prevenção, ou redução dos sintomas, efeitos ou mecanismos. A quantidade eficaz pode compreender uma quantidade de cerca de 0,001 a 500 mg/kg por (por exemplo, de pílulas), administração contínua única ou múltipla, ou para atingir uma concentração sérica de 0,01-5000 µg/ml de concentração no soro por administração única, múltipla, ou contínua, ou qualquer gama ou valor eficaz, como foi feito e determinado utilizando métodos conhecidos, tal como aqui descrito ou conhecido nas técnicas relevantes.

Anticorpos da presente invenção - Produção e concepção

Pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 da presente invenção pode ser opcionalmente produzido por uma linha celular, uma linha celular mista, uma célula imortalizada ou uma população clonal de células imortalizadas, como bem conhecido na técnica. Ver, por exemplo, Ausubel, et al., Ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., Nova Iorque, Nova Iorque (1987-2001); Sambrook, et al, Molecular Cloning:. A Laboratory Manual, 2ª Edição, Cold Spring Harbor, Nova Iorque (1989); Harlow e Lane, Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, Nova Iorque (1989); Colligan, et al., Eds., Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994-2001); Colligan et al., Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, Nova Iorque, NY, (1997-2001).

Os anticorpos que são específicos para as proteínas ou fragmentos de IL-23p19 humanos da mesma podem ser levantados contra um antigénio imunogénico adequado, tal como uma proteína de IL-23p19 isolada e/ou uma sua porção (incluindo moléculas sintéticas, tais como péptidos sintéticos). Outros anticorpos específicos ou gerais, incluindo, sem limitação, anticorpos de mamífero, podem ser levantados de forma semelhante. A preparação de antigénios imunogénicos, e a produção de anticorpo monoclonal pode ser realizada utilizando qualquer técnica adequada.

Numa abordagem, um hibridoma que é produzido através da fusão de uma linha celular imortal adequada (por exemplo, uma linha de células de mieloma, tais como, mas não limitadas a, Sp2/0, Sp2/0-AG14, NSO, NS1, NS2, AE-1 , L.5, L243, P3x63Ag8.653, Sp2 SA3, Sp2 MAI, SP2 SS1, Sp2 SA5,

U937, MLA 144, ACT IV, MOLT4, DA-1, JURKAT, WEHI, K-562, COS, RAJI, NIH 3T3, HL-60, MLA 144, NAMALWA, NEURO 2A, ou semelhantes, ou heteromielomas, ou produtos da fusão dos mesmos, ou de qualquer célula ou fusão celular dela derivada, ou qualquer outra linha celular adequada, como conhecido na técnica) (ver, e.g., www.atcc.org, www.lifetech.com, e outros semelhantes), com as células produtoras de anticorpos, tais como, mas não limitados a, baço isolado ou clonado, sangue periférico, linfa, amígdalas, ou outra célula imune ou B contendo células, ou quaisquer outras células expressando cadeia pesada ou leve constante ou variável ou sequências de estrutura ou CDR, quer como ácido nucleico endógeno ou heterólogo, tal como recombinantes ou endógenos, viral, bacteriano, de algas, procariota, anfíbio, insectos, répteis, peixes, mamíferos, roedores, equinos, ovinos, caprinos, primatas, eucariótico, ADN genómico, cADN, rADN, mitocondrial ADN ou ARN, ADN do cloroplasto ou ARN, hnARN, mARN, tARN, de fita simples, dupla ou tripla, hibridizado, e semelhantes ou qualquer combinação destes. Ver, por exemplo, Ausubel, supra, e Colligan, Immunology, supra, capítulo 2.

Células produtoras de anticorpos podem também ser obtidas a partir do sangue periférico, ou de preferência, do baço ou nodos linfáticos, de seres humanos ou outros animais adequados que tenham sido imunizados com o antigénio de interesse. Qualquer outra célula hospedeira adequada pode também ser usada para expressar ácido nucleico heterólogo ou endógeno que codifica um anticorpo, fragmento especificado ou sua variante, da presente invenção. As células fundidas (hibridomas) ou as células recombinantes podem ser isoladas utilizando condições de cultura seletivas ou outros modos conhecidos adequados e clonadas

por diluição limitante ou separação de células, ou outros métodos conhecidos. As células que produzem anticorpos com a especificidade desejada podem ser selecionadas por um ensaio adequado (por exemplo, ELISA).

Métodos para a modificação ou humanização de anticorpos não humanos ou humanos podem também ser usados e são bem conhecidos na técnica. Um anticorpo humanizado ou modificado pode ter um ou mais resíduos de aminoácidos a partir de uma fonte que é não humana, como por exemplo, mas não limitado a, murganho, rato, coelho, primata não humano ou outro mamífero. Estes resíduos de aminoácidos não humanos são substituídos por resíduos que são frequentemente referidos como resíduos "importados", que são tipicamente retirados de uma variável de "importação", constante ou outro domínio de uma sequência humana conhecida.

Sequências Ig humanas conhecidas são divulgadas, por exemplo, em www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi; www.ncbi.nih.gov/igblast; www.atcc.org/phage/hdb.html; www.mrc-cpe.cam.ac.uk/ALIGNMENTS.phg; www.kabatdatabase.com/top.html;ftp.ncbi.nih.gov/repository/kabat; www.sciquest.com; www.abcam.com; www.antibodyresource.com/onlinecomp.html; www.public.iastate.edu/~pedro/research_tools.html; www.whfreeman.com/immunology/CH05/kuby05.htm; www.hhmi.org/grants/lectures/1996/vlab; www.path.cam.ac.uk/~mrc7/mikeimages.html; mcb.harvard.edu/Biolinks/Immunology.html;. www.immunologylink.com; pathbox.wustl.edu/-hcenter/index.html;. www.appliedbiosystems.com; www.nal.usda.gov/awic/pubs/antibody; www.m.ehime-u.ac.jp/~Yasuhito/Elisa.html; www.biodesign.com; www.

cancerresearchuk.org; www.biotech.ufl.edu; www.isac-net.org; baserv. uci.kun.nl/-.jraats/linksl.html; www. recab.uni-hd.de/immuno.bme.nwu.edu; www.mrc-cpe.cam.ac.uk; www.ibt.unam.mx/vir/V_mice.html; http://www.bioinf.org.uk/abs; antibody.bath.ac.uk; www. unizh.ch; www.cryst.bbk.ac.uk/-ubcg07s; www.nimr.mrc.ac.uk/cc/ccaewg/ccaewg.html; www.path.cam.ac.uk/~mrc7/humanisation/TAHHP.html; www.ibt.unam.mx/vir/structure/stat_aim.html; www.biosci.missouri.edu/smithgp/index.html; www.jerini.de; Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health (1983).

Tais sequências importadas podem ser utilizadas para reduzir a imunogenicidade ou reduzir, aumentar ou modificar a ligação, a afinidade, em linha, fora da linha, a avidez, a especificidade, a meia-vida, ou qualquer outra característica adequada, como conhecida na técnica. Em geral, os resíduos CDR estão diretamente e muito substancialmente envolvidos na influência da ligação ao antigénio. Por conseguinte, uma parte ou todas as sequências de CDR não humanos ou humanos são mantidas enquanto as sequências não-humanas de regiões variáveis e constantes podem ser substituídas com aminoácidos humanos ou outros.

Os anticorpos também podem, opcionalmente, ser anticorpos humanizados ou modificados ou anticorpos humanos modificados com retenção de elevada afinidade para o antigénio e outras propriedades biológicas favoráveis. Para atingir este objectivo, os anticorpos humanizados (ou humanos) podem ser opcionalmente preparados por um processo de análise das sequências parentais e de vários produtos

humanizados conceptuais ou modificados utilizando modelos tridimensionais das sequências parentais, modificadas e humanizadas. Modelos tridimensionais de imunoglobulinas estão vulgarmente disponíveis e são familiares aos peritos na técnica. Estão disponíveis programas de computador que ilustram e exibem estruturas tridimensionais conformacionais prováveis de sequências de imunoglobulina candidatas selecionadas. A inspeção destas apresentações permite a análise do papel provável dos resíduos no funcionamento da sequência de imunoglobulina candidata, ou seja, a análise dos resíduos que influenciam a capacidade da imunoglobulina candidata se ligar ao seu antigénio. Deste modo, a estrutura de resíduos (FR) pode ser selecionada e combinada a partir das sequências de consenso e de importação de modo que a característica de anticorpo desejada, tal como maior afinidade para o antigénio (s) alvo, seja alcançada.

Além disso, o anticorpo IL-23p19 da presente invenção pode compreender uma estrutura de cadeia leve da linha germinativa humana. Em concretizações particulares, a sequência da linha germinativa de cadeia leve é selecionada de entre as sequências VK humana incluindo, mas não limitadas a, A1, A10, All, A14, A17, A18, A19, A2, A20, A23, A26, A27, A3, A30, A5, A7, B2, B3, L1, L10, L11, L12, L14, L15, L16, L18, L19, L2, L20, L22, L23, L24, L25, L4/18a, L5, L6, L8, L9, O1, O11, 012, 014, 018, 02, 04 e 08. Em certas formas de realização, esta estrutura da linha germinativa de cadeia leve humana é selecionada a partir de V1-11, V1-13, V1-16, V1-17, V1-18, V1-19, V1-2, V1-20, V1-22, V1-3, V1-4, V1-5, V1-7, V1-9, V2-1, V2-11, V2-13, V2-14, V2-15, V2-17, V2-19, V2-6, V2-7, V2-8, V3-2, V3-3, V3-4, V4-1, V4-2, V4-3, V4-4, V4-6, V5-1, V5-2, V5-4,

e V5-6. Ver o documento PCT WO 2005/005604 para uma descrição das diferentes sequências da linha germinativa.

Em outras concretizações, o anticorpo IL-23 da presente invenção pode compreender uma estrutura de cadeia pesada da linha germinativa humana. Em formas de realização particulares, esta estrutura da linha germinativa de cadeia pesada humana é selecionada a partir de VH1-18, VH1-2, VH1-24, VH1-3, VH1-45, VH1-46, VH1-58, VH1-69, VH1-8, VH2-26, VH2-5, VH2-70, VH3-11, VH3-13, VH3-15, VH3-16, VH3-20, VH3-21, VH3-23, VH3-30, VH3-33, VH3-35, VH3-38, VH3-43, VH3-48, VH3-49, VH3-53, VH3-64, VH3-66, VH3-7, VH3-72, VH3-73, VH3-74, VH3-9, VH4-28, VH4-31, VH4-34, VH4-39, VH4-4, VH4-59, VH4-61, VH5-51, VH6-1, e VH7-81. Ver o documento PCT WO 2005/005604 para uma descrição das diferentes sequências da linha germinativa.

Em concretizações particulares, a região variável de cadeia leve e/ou uma região variável da cadeia pesada compreende uma região de estrutura, ou pelo menos uma porção de uma região de estrutura (por exemplo, contendo 2 ou 3 sub-regiões, tais como FR2 e FR3). Em certas formas de realização, pelo menos FRL1, FRL2, FRL3, ou FRL4 são totalmente humanas. Em outras formas de realização, pelo menos FRH1, FRH2, FRH3, ou FRH4 são totalmente humanas. Em algumas formas de realização, pelo menos FRL1, FRL2, FRL3, ou FRL4 é uma sequência da linha germinativa (por exemplo, linha germinativa humana) ou compreende sequências de consenso humanas para a estrutura particular (prontamente disponível para as fontes de sequências conhecidas de Ig humana descritas acima). Em outras formas de realização, pelo menos FRH1, FRH2, FRH3, ou FRH4 é uma sequência da linha germinativa (por exemplo, linha germinativa humana)

ou compreende sequências de consenso humanas para a estrutura particular. Em concretizações preferidas, a região de estrutura é uma região de estrutura humana.

Anticorpos humanizados ou modificados da presente invenção podem ser realizados utilizando qualquer método conhecido, tal como mas não limitado aos descritos em Winter (Jones et al., Nature 321:522 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323 (1988); Verhoeyen et al., Science 239:1534 (1988)) Sims et al. J. Immunol. 151: 2296 (1993); Chothia e Lesk, J. Mol. Biol. 196:901 (1987) Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285 (1992); Presta et al. J. Immunol. 151:2623 (1993), Patentes US 5723323, 5976862, 5824514, 5817483, 5814476, 5763192, 5723323, 5766886, 5714352, 6204023, 6180370, 5693762, 5530101, 5585089, 5225539; 4816567, PCT/: US98/16280, US96/18978, US91/09630, US91/05939, US94/01234, GB89/01334, GB91/01134, GB92/01755; WO90/14443, WO90/14424, WO90/14430, EP 229246.

Em certas concretizações, o anticorpo compreende uma região Fc alterada (por exemplo, mutada). Por exemplo, em algumas formas de realização, a região Fc foi modificada para reduzir ou melhorar as funções efectoras do anticorpo. Em algumas formas de realização, a região Fc, é um isótopo selecionado a partir de IgM, IgA, IgG, IgE, ou outro isótipo.

Alternativamente ou adicionalmente, pode ser útil combinar modificações de aminoácidos com uma ou mais outras modificações de aminoácidos que alteram a ligação de Clq e/ou a função de citotoxicidade dependente do complemento (CDC) da região Fc de uma molécula de ligação a IL-23p19.

O polipéptido de ligação de particular interesse pode ser um que se liga a Clq e exibe citotoxicidade dependente de complemento. Os polipéptidos com atividade de ligação pré-existente a Clq, tendo opcionalmente ainda a capacidade para mediar CDC podem ser modificados de tal forma que uma ou ambas destas atividades são aumentadas. Modificações de aminoácidos que alteram a Clq e/ou modificam a sua função de citotoxicidade dependente de complemento são descritos, por exemplo, na WO/0042072.

Como revelado anteriormente, pode-se conceber uma região Fc do anticorpo IL-23p19 da presente invenção com função efectora alterada, por exemplo, modificando a ligação ao C1q e/ou a ligação FcγR e desse modo alterando a atividade CDC e/ou a atividade ADCC. "Funções efectoras" são responsáveis por ativar ou diminuir a atividade biológica (por exemplo, num sujeito). Exemplos de funções efectoras incluem, mas não estão limitados a: ligação C1q; citotoxicidade dependente de complemento (CDC); ligação ao receptor Fc; citotoxicidade mediada por células (ADCC) dependente de anticorpos; fagocitose; regulação para baixo dos receptores de superfície celular (por exemplo, células B receptoras; BCR), etc. Tais funções efectoras podem exigir que a região Fc seja combinada com um domínio de ligação (por exemplo, um domínio variável de anticorpo) e podem ser avaliadas utilizando vários ensaios (por exemplo, ensaios de ligação de Fc, ensaios ADCC, ensaios CDC etc.).

Por exemplo, pode-se gerar uma região Fc variante do anticorpo IL-23p19 com melhor ligação Clq e FcγRIIIbinding melhorada (por exemplo, tendo ambos uma melhor atividade ADCC e melhor atividade CDC). Alternativamente, se for desejado que a função efectora seja reduzida ou eliminada,

pode ser manipulada uma região Fc variante com reduzida atividade CDC e/ou reduzida atividade ADCC. Em outras formas de realização, apenas uma dessas atividades pode ser aumentada, e, opcionalmente, também outra atividade reduzida (por exemplo, para gerar uma variante da região Fc com atividade ADCC melhorada, mas reduzida atividade CDC e vice-versa).

As mutações Fc podem também ser introduzidas nas modificações para alterar a sua interação com o receptor neonatal Fc (FcRn) e melhorar as suas propriedades farmacocinéticas. Tem sido descrita uma coleção de variantes Fc humano com ligação melhorada ao FcRn (Shields et al., (2001). Mapeamento de alta resolução do local de ligação IgG1 humano para FcγRI, FcγRII, FcγRIII e FcRn e concepção de variantes IgG1 com melhor ligação ao FcγR, J. Biol. Chem. 276:6591-6604).

Outro tipo de substituição de aminoácidos serve para alterar o padrão de glicosilação da região Fe do anticorpo IL-23p19. A glicosilação de uma região Fc é tipicamente ou N-ligada ou O-ligada. N-ligada refere-se à ligação da porção hidrato de carbono à cadeia lateral de um resíduo de asparagina. A glicosilação O-ligada refere-se à ligação de um dos açúcares N-acetilgalactosamina, galactose ou xilose a um hidroxiaminoácido, mais vulgarmente serina ou treonina, embora também possam ser utilizados 5-hidroxiprolina ou 5-hidroxilisina. As sequências de reconhecimento para a ligação enzimática da porção hidrato de carbono para as sequências de péptido de cadeia lateral de asparagina são asparagina-X-serina e asparagina-X-treonina, onde X é qualquer aminoácido excepto prolina.

Assim, a presença de qualquer destas sequências de péptidos num polipeptídeo cria um sítio de glicosilação potencial.

O padrão de glicosilação pode ser alterado, por exemplo, suprimindo um ou mais locais de glicosilação (s) encontrados no polipeptídeo, e/ou adicionando um ou mais sítios de glicosilação (s) que não estão presentes no polipeptídeo. A adição de sítios de glicosilação para a região Fc de um anticorpo IL-23p19 é convenientemente realizada alterando a sequência de aminoácidos de tal modo que contenha uma ou mais das sequências tripeptídicas acima descritas (para locais de glicosilação N-ligados). Uma variante de glicosilação exemplificativa tem uma substituição de aminoácidos de resíduos Asn 297 da cadeia pesada. A alteração pode também ser feita por adição de, ou substituição por, um ou mais resíduos de serina ou treonina à sequência do polipeptídeo de origem (para locais de glicosilação O-ligados). Além disso, a mudança de Asn 297 para Ala pode remover um dos sítios de glicosilação.

Em certas concretizações, o anticorpo IL-23p19 da presente invenção é expresso em células que expressam beta (1,4)-N-acetilglucosaminiltransferase III (GnT III), de tal modo que GnT III acrescenta GlcNAc para o anticorpo IL-23p19. Métodos para a produção de anticorpos, de tal forma são fornecidos em WO/9954342, WO/03011878, Publicação 20030003097A1, e Umana et al., Nature Biotechnology, 17:176-180, fevereiro de 1999. Um anticorpo anti-IL-23p19 pode, opcionalmente, ser gerado por imunização de um animal transgénico (por exemplo, ratinho, rato, hamster, primata não-humano, e semelhantes) capaz de produzir um repertório de anticorpos humanos, como aqui descrito e/ou como conhecido na técnica. As células que produzem um anticorpo

anti-IL-23p19 podem ser isoladas a partir de tais animais e imortalizadas utilizando métodos adequados, tais como os métodos aqui descritos.

Os ratinhos transgénicos que podem produzir um repertório de anticorpos humanos que se ligam a antigénios humanos podem ser produzidos por métodos conhecidos (por exemplo, mas não limitado a, Patentes US 5770428, 5569825, 5545806, 5625126, 5625825, 5633425, 5661016 e 5789650 concedida a Lonberg et al.; Jakobovits et al. WO 98/50433, Jakobovits et al. WO 98/24893, Lonberg et al. WO 98/24884, Lonberg et al. WO 97/13852, Lonberg et al. WO 94/25585, Kucherlapate et al. WO 96/34096, Kucherlapate et al. EP 0463 151 B1, Kucherlapate et al. EP 0710 719 A1, Surani et al. Patente US 5545807, Bruggemann et al. WO 90/04036, Bruggemann et al. EP 0438 474 B1, Lonberg et al. EP 0814 259 A2, Lonberg et al. GB 2 272 440 A, Lonberg et al. Nature 368:856-859 (1994), Taylor et al., Int. Immunol. 6 (4) 579-591 (1994), Green et al, Nature Genetics 7:13-21 (1994) Mendez et al., Nature Genetics 15:146-156 (1997), Taylor et al., Nucleic Acids Research 20 (23):6287-6295 (1992), Tuaillon et al., Proc Natl Acad Sci USA 90 (8) 3720-3724 (1993), Lonberg et al., Int Rev Immunol 13 (1):65-93 (1995) e Fishwald et al., Nat Biotechnol 14 (7):845-851 (1996). Geralmente, estes murganhos compreendem, pelo menos, um transgene compreendendo ADN de, pelo menos, um locus de imunoglobulina humana que é funcionalmente rearranjado ou que pode sofrer rearranjo funcional. Os loci de imunoglobulina endógenos em tais ratos podem ser rompidos ou suprimidos para eliminar a capacidade do animal para produzir anticorpos codificados por genes endógenos.

Anticorpos de rastreio para a ligação específica a proteínas ou fragmentos semelhantes podem ser convenientemente conseguidos utilizando bibliotecas de apresentação de péptidos. Este método envolve o rastreio de grandes coleções de péptidos para membros individuais tendo a função ou a estrutura pretendida. Rastreios de anticorpos de bibliotecas de apresentação de péptidos são bem conhecidos na técnica. As sequências de péptidos exibidas podem ser de 3-5000 ou mais aminoácidos de comprimento, muitas vezes 5-100 aminoácidos de comprimento, e frequentemente desde cerca de 8 a 25 aminoácidos de comprimento. Além dos métodos de síntese de química direta para a produção de bibliotecas de péptidos, vários métodos de ADN recombinante têm sido descritos.

Um tipo envolve a exibição de uma sequência de péptido na superfície de um bacteriófago ou célula. Cada bacteriófago ou célula contem a sequência de nucleótidos que codifica para a sequência peptídica apresentada em particular. Tais métodos são descritos nas Publicações PCT 91/17271, 91/18980, 91/19818, e 93/08278.

Outros sistemas para gerar bibliotecas de péptidos têm aspectos tanto de síntese química *in vitro* como de métodos de recombinação. Veja-se, as Publicações PCT 92/05258, 92/14843, e 96/19256. Veja-se também, a Patentes US 5658754; e 5643768. Bibliotecas de peptídeos de representação, vetor, e kits de triagem estão comercialmente disponíveis a partir de tais fornecedores como Invitrogen (Carlsbad, CA), e Cambridge Antibody Technologies (Cambridgeshire, Reino Unido). Ver, por exemplo, as Patentes US 4704692, 939666, 4946778, 5260203, 5455030, 5518889, 5534621, 5656730, 5763733, 5767260, 5856456, concedida a Enzon; 5223409, 5403484, 5571698,

5837500, concedida a Dyax; 5427908, 5580717, concedida a Affymax; 5885793, concedida a Cambridge Antibody Technologies; 5750373, concedida a Genentech; 5618920, 5595898, 5576195, 5698435, 5693493, 5698417, concedida a Xoma, Colligan, supra; Ausubel, supra; ou Sambrook, supra.

Os anticorpos da presente invenção também podem ser preparados utilizando pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 que codifica o ácido nucleico para proporcionar animais transgénicos ou mamíferos, como cabras, vacas, cavalos, ovelhas, coelhos e semelhantes, que produzem tais anticorpos no seu leite. Tais animais podem ser fornecidos através de métodos conhecidos. Ver, por exemplo, mas não limitado a, Patentes US 5827690; 5849992; 4873316; 5849992; 5994616; 5565362; 5304489, e semelhantes.

Os anticorpos da presente invenção podem, adicionalmente, ser preparados utilizando pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 que codifica o ácido nucleico para fornecer plantas transgénicas e células de plantas em cultura (por exemplo, mas não limitado a, tabaco e milho) que produzem esses anticorpos, ou porções especificadas variantes nas partes das plantas ou em células cultivadas das mesmas. Como um exemplo não limitante, folhas de tabaco transgénico expressando as proteínas recombinantes foram utilizadas com sucesso para proporcionar grandes quantidades de proteínas recombinantes, por exemplo, utilizando um promotor indutível. Ver, por exemplo, Cramer, et al., Curr. Top. Microbol. Immunol. 240:95-118 (1999) e referências aí citadas. Além disso, milho transgénico tem sido utilizado para expressar proteínas de mamífero a níveis de produção comercial, com atividades biológicas equivalentes às produzidas em outros sistemas recombinantes ou purificados

a partir de fontes naturais. Ver, por exemplo, Hood et al., Adv. Exp. Med. Chem. Biol. 464:127-147 (1999) e referências aí citadas. Os anticorpos também têm sido produzidos em grandes quantidades a partir de sementes de plantas transgénicas, incluindo fragmentos de anticorpos, tais como anticorpos de cadeia simples (scFv), incluindo sementes de tabaco e de tubérculos de batata. Ver, por exemplo, Conrad et al., Planta Mol. Biol. 38:101-109 (1998) e referências aí citadas. Assim, os anticorpos da presente invenção também podem ser produzidos utilizando as plantas transgénicas, de acordo com métodos conhecidos. Ver também, por exemplo, Fischer et al., Biotechnol. Appl. Biochem. 30:99-108 (outubro de 1999); Ma et al., Trends Biotechnol. 13:522-7 (1995); Ma et al., Plant Physiol. 109:341-6 (1995); Whitelam et al. Biochem. Soc. Trans. 22:940-944 (1994), e as referências aí citadas.

Os anticorpos da invenção podem ligar IL-23p19 humano com uma ampla gama de afinidades (K_D). Numa forma de realização preferida, pelo menos um mAb da presente invenção pode, opcionalmente, ligar IL-23p19 humano com elevada afinidade. Por exemplo, um mAb humano ou outro pode ligar IL-23p19 humano com um K_D igual ou inferior a cerca de 10^{-7} M, tal como, mas não limitado a, 0,1-9,9 (ou qualquer gama ou valor dentro desses) X 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9}, 10^{-10}, 10^{-11}, 10^{-12}, 10^{-13}, 10^{-14}, 10^{-15}, ou qualquer intervalo ou valor do mesmos, tal como determinado por ressonância de plásmon de superfície ou método Kinexa, conforme praticado por qualquer peritos na técnica. Numa concretização, os anticorpos da invenção ligam-se a IL-23, ou mais especificamente, a IL-23p19, com um K_D entre cerca de 3,38 x 10^{-10} M e cerca de 4,3 x 10^{-11} M.

A afinidade ou avidez de um anticorpo para um antigénio pode ser determinada experimentalmente utilizando qualquer método adequado. (Ver, por exemplo, Berzofsky, et al, "Antibody-Antigen Interactions", em Fundamental Immunology, Paul, W.E., Ed, Raven Press: New York, NY (1984); Kuby, Janis Immunology, W.H. Freeman and Company: New York, NY (1992), e métodos aqui descritos). A afinidade medida de uma determinada interação anticorpo-antigénio pode variar se medida sob diferentes condições (por exemplo, a concentração salina, pH). Assim, as medições de afinidade e outros parâmetros de ligação ao antigénio (por exemplo, K_D, k_{on}, K_{off}) são de preferência feitas com soluções padronizadas de anticorpo e de antigénio, e um tampão padronizado, tais como o tampão aqui descrito.

Certas formas de realização dos anticorpos anti-IL-23p19 da invenção têm as sequências mostradas nas Tabelas de Sequências abaixo. Por exemplo, um anticorpo anti-IL-23p19 da invenção tem uma das sequências de cadeia leve CDR1 da SEQ ID N°s: 9, 19, 29 e 39, uma das sequências de CDR2 da cadeia leve de SEQ ID N°s: 10, 20, 30, e 40, uma das sequências de CDR3 de cadeia leve de SEQ ID N°s: 11, 21, 31 e 41, uma das sequências de cadeia pesada CDR1 de SEQ ID N°s: 4, 14, 24 e 34, uma das sequências de cadeia pesada CDR2 de SEQ ID N°s: 5, 15, 25, e 35, e/ou uma sequência cadeia pesada CDR1 de SEQ ID N°s: 6, 16, 26 e 36.

Moléculas de Ácido Nucleico

Utilizando a informação aqui fornecida, por exemplo, as sequências de nucleótidos que codificam pelo menos 70-100% dos aminoácidos contíguos de, pelo menos, uma das regiões variáveis de cadeia leve de SEQ ID N°s: 7, 17, 27, e 37 e, pelo menos uma das regiões variáveis de cadeia pesada de

SEQ ID N°s: 2, 12, 22, e 32, os fragmentos especificados, variantes ou sequências de consenso dos mesmos, ou um vector depositado compreendendo, pelo menos, uma dessas sequências, uma molécula de ácido nucleico da presente invenção que codifica pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 podem ser obtidas utilizando métodos aqui ou como é conhecido na técnica descrita.

As moléculas de ácido nucleico da presente invenção podem estar na forma de ARN, tal como mARN, hnARN, tARN ou qualquer outra forma, ou na forma de ADN, incluindo, mas não limitado a, cADN e ADN genómico obtido através de clonagem ou produzido sinteticamente, ou quaisquer combinações dos mesmos. O ADN pode ser de cadeia tripla, de cadeia dupla ou de cadeia simples, ou qualquer combinação destes. Qualquer porção de, pelo menos, uma cadeia de ADN ou ARN pode ser a cadeia de codificação, também conhecida como a cadeia com sentido, ou pode ser a cadeia não codificação, também referida como a cadeia anti-sentido.

As moléculas de ácido nucleico isoladas da presente invenção podem incluir moléculas de ácido nucleico compreendendo uma grelha de leitura aberta (ORF), opcionalmente, com um ou mais intrões, por exemplo, mas não limitado a, pelo menos, uma porção específica de, pelo menos, uma CDR, tal como o CDR1, CDR2 e/ou CDR3 de, pelo menos, uma cadeia leve (9, 10, 11, 19, 20, 21, 29, 30, 31, 39, 40, 41) ou de, pelo menos, uma cadeia pesada (SEQ ID N°s: 4, 5, 6, 14, 15, 16, 24, 25, 26, 34, 35 e 36); as moléculas de ácido nucleico compreendendo a sequência de codificação para um anticorpo anti-IL-23p19 ou região variável (por exemplo, as regiões variáveis de cadeia leve

da SEQ ID N°s: 7, 17, 27, e 37 e as regiões variáveis de cadeia pesada da SEQ ID N°s: 2, 12, 22 e 32); e moléculas de ácidos nucleicos que compreendem uma sequência de nucleótidos substancialmente diferente daqueles descritos acima, mas que, devido à degenerescência do código genético, ainda codificam, pelo menos, um anticorpo anti-IL-23p19, como aqui descrito e/ou como conhecido na técnica. Claro que, o código genético é bem conhecido na técnica. Assim, seria rotina para um perito na técnica gerar tais variantes degeneradas de ácidos nucleicos que codificam para anticorpos anti-IL-23p19 específicos da presente invenção. Ver, por exemplo, Ausubel, et al., *Supra*, e tais as variantes de ácidos nucleicos estão incluídas na presente invenção.

Tal como é aqui indicado, as moléculas de ácido nucleico da presente invenção, que compreendem um ácido nucleico que codifica um anticorpo anti-IL-23p19 podem incluir, mas não estão limitados a, aquelas que codificam a sequência de aminoácidos de um fragmento de anticorpo, por si só; a sequência de codificação para o anticorpo completo ou uma porção deste; a sequência que codifica para um anticorpo, fragmento ou porção, bem como sequências adicionais, tais como as sequências de codificação de pelo menos um péptido de sinal líder ou de fusão, com ou sem as sequências de codificação adicionais acima mencionadas, tal como pelo menos um intrão, em conjunto, com sequências não codificadoras adicionais, incluindo, mas não limitados a, sequências não-codificadoras 5' e 3', tais como as sequências transcritas, não traduzidas que desempenham um papel na transcrição, processamento de mARN, incluindo sinais de união e de poliadenilação (por exemplo, ligação de ribossoma e estabilidade de mARN); uma sequência de

codificação adicional que codifica para aminoácidos adicionais, tais como aqueles que proporcionam funcionalidades adicionais. Assim, a sequência que codifica um anticorpo pode ser fundida com uma sequência marcadora, tal como uma sequência que codifica um péptido que facilita a purificação do anticorpo fundido compreendendo um fragmento de anticorpo ou porção.

Polinucleótidos para hibridar seletivamente um polinucleótido como aqui descrito

A presente invenção proporciona ácidos nucleicos isolados que hibridam sob condições de hibridação seletiva com um polinucleótido aqui revelado. Assim, os polinucleótidos da presente forma de realização podem ser usados para isolar, detectar e/ou quantificar ácidos nucleicos compreendendo esses polinucleótidos. Por exemplo, os polinucleótidos da presente invenção podem ser utilizados para identificar, isolar ou amplificar clones parciais ou de comprimento completo de uma biblioteca depositada. Em algumas concretizações, os polinucleótidos são sequências genómicas ou de cADN isolado, ou de outro modo, complementares para um cADN a partir de uma biblioteca de ácido nucleico humana ou de mamífero.

De preferência, a biblioteca de cADN compreende pelo menos 80% sequências de comprimento total, de preferência, pelo menos 85% ou 90% de sequências de comprimento total e, mais preferencialmente, pelo menos 95% de sequências de comprimento total. As bibliotecas de cADN podem ser normalizadas para aumentar a representação das sequências raras. As condições de hibridação de rigor moderado ou baixo são tipicamente, mas não exclusivamente, empregues com sequências com uma identidade de sequência reduzida em

relação às sequências complementares. Condições de rigor moderado e elevado podem, opcionalmente, ser empregues para sequências de maior identidade. Condições de baixo rigor permitem a hibridação seletiva de sequências tendo cerca de 70% de identidade de sequência e podem ser utilizadas para identificar sequências de ortólogos ou parálogos.

Opcionalmente, os polinucleótidos da presente invenção irão codificar pelo menos uma porção de um anticorpo codificado pelos polinucleótidos aqui descritos. Os polinucleótidos da presente invenção abraçam sequências de ácido nucleico que podem ser empregues para a hibridação seletiva com um polinucleótido que codifica um anticorpo da presente invenção. Ver, por exemplo, Ausubel, supra; Colligan, supra.

Construção de Ácidos Nucleicos

Os ácidos nucleicos isolados da presente invenção podem ser feitos utilizando (a) métodos recombinantes, (b) técnicas sintéticas, (c), técnicas de purificação e/ou (d) suas combinações, como bem conhecido na técnica.

Os ácidos nucleicos podem, convenientemente, compreender sequências adicionais de um polinucleótido da presente invenção. Por exemplo, um sítio de multi-clonagem compreendendo um ou mais locais de restrição de endonuclease pode ser inserido no ácido nucleico para auxiliar no isolamento do polinucleótido. Além disso, as sequências traduzíveis podem ser inseridas para auxiliar no isolamento do polinucleótido traduzido da presente invenção. Por exemplo, uma sequência marcadora de hexa-histidina proporciona um meio conveniente para purificar as

proteínas da presente invenção. O ácido nucleico da presente invenção, excluindo a sequência de codificação, é opcionalmente um vector, adaptador ou ligante para clonagem e/ou expressão de um polinucleótido da presente invenção.

Sequências adicionais podem ser adicionados a tal clonagem e/ou sequências de expressão para optimizar a sua função na clonagem e/ou expressão, para auxiliar no isolamento do polinucleótido ou para melhorar a introdução do polinucleótido numa célula. A utilização de vectores de clonagem, vectores de expressão, adaptadores e ligantes são bem conhecidas na técnica. (Ver, por exemplo, Ausubel, *supra*, ou Sambrook, *supra)*.

Métodos recombinantes para a construção de ácidos nucleicos

As composições de ácido nucleico isolado da presente invenção, tais como ARN, cADN, ADN genómico, ou qualquer combinação dos mesmos, podem ser obtidas a partir de fontes biológicas através de qualquer número de metodologias de clonagem conhecidas dos especialistas na técnica. Em algumas concretizações, as sondas de oligonucleótidos que hibridam seletivamente, sob condições rigorosas, com os polinucleótidos da presente invenção são usadas para identificar a sequência desejada de uma biblioteca de cADN ou ADN genómico. O isolamento de ARN, e a construção de bibliotecas de cADN e genómico, são bem conhecidos dos vulgares peritos na técnica. (Ver, por exemplo, Ausubel, *supra*, ou Sambrook, *supra)*.

Apresentação de ácido nucleico e métodos de isolamento

Uma biblioteca de cADN ou genómico pode ser pesquisada usando uma sonda com base na sequência de um polinucleótido da presente invenção, tais como aqueles aqui revelados. As

sondas podem ser utilizadas para hibridar com o ADN genómico ou cADN para isolar sequências de genes homólogos na mesma ou em diferentes organismos. Os peritos na técnica apreciarão que vários graus de rigidez de hibridização podem ser empregues no ensaio; e quer a hibridação ou o meio de lavagem pode ser rigoroso. À medida que as condições de hibridação se tornam mais rigorosas, deve existir um maior grau de complementaridade entre a sonda e o alvo para que ocorra a formação dupla. O grau de rigidez pode ser controlado por um ou mais de temperatura, força iónica, pH e pela presença de um solvente parcialmente desnaturante, tal como a formamida. Por exemplo, o rigor da hibridação é convenientemente variado pela alteração da polaridade da solução reagente através, por exemplo, a manipulação da concentração de formamida dentro da gama de 0% a 50%. O grau de complementaridade (identidade de sequência) requerido para uma ligação detectável irá variar de acordo com a rigidez do meio de hibridização e/ou do meio de lavagem. O grau de complementaridade será otimamente de 100%, ou 70-100%, ou qualquer intervalo ou valor aí contido. No entanto, deve ser compreendido que pequenas variações da sequência nas sondas e iniciadores podem ser compensadas por redução da rigidez da hibridização e/ou do meio de lavagem.

Os métodos de amplificação de ARN ou ADN são bem conhecidos na técnica e podem ser utilizados de acordo com a presente invenção, sem experimentação indevida, com base nos ensinamentos e orientações aqui apresentados.

Os métodos conhecidos de amplificação de ADN ou ARN incluem, mas não estão limitados a, reação em cadeia de polimerase (PCR) e processos de amplificação relacionados

(ver, por exemplo, as Patentes US 4683195, 4683202, 4800159, 4965188, de Mullis, et al.; 4795699 e 4921794 de Tabor et al.; 5142033 de Innis; 5122464 de Wilson, et al.; 5091310 de Innis; 5066584 de Gyllensten et al.; 4889818 de Gelfand, et al.; 4994370 de Silver et al.; 4766067 de Biswas; 4656134 de Ringold) e amplificação mediada por ARN que usa ARN anti-sentido para a sequência alvo como um molde para a síntese de ADN de cadeia dupla (Patente US 5130238 de Malek, et al., com o nome comercial NASBA). (Ver, por exemplo, Ausubel, *supra;* ou Sambrook, *supra).*

Por exemplo, a tecnologia de reação em cadeia de polimerase (PCR) pode ser utilizada para amplificar as sequências de polinucleótidos da presente invenção e genes relacionados diretamente a partir de ADN genómico ou bibliotecas de cADN. PCR e outros métodos de amplificação *in vitro* podem também ser úteis, por exemplo, para clonar sequências de ácido nucleico que codificam proteínas para serem expressas, para fazer ácidos nucleicos para usar como sondas para detectar a presença do mARN desejado em amostras, para sequenciar o ácido nucleico, ou para outros fins. Exemplos de técnicas suficientes para peritos através de métodos de amplificação *in vitro* são encontrados em Berger, supra, Sambrook, supra, e Ausubel, supra, assim como em Mullis, et al., Patente US 4683202 (1987); e Innis, et al., PCR Protocols A Guide to Methods and Applications, Eds., Academic Press Inc., San Diego, CA (1990). Kits comercialmente disponíveis para a amplificação genómica por PCR são conhecidos na técnica. Ver, por exemplo, o Kit Advantage-GC Genomic PCR (Clontech). Além disso, por exemplo, a proteína 32 do gene T4 (Boehringer Mannheim) pode ser usada para melhorar o rendimento de produtos de PCR longos.

Métodos de síntese para a construção de ácidos nucleicos

Os ácidos nucleicos isolados da presente invenção podem também ser preparados por síntese química direta através de métodos conhecidos (ver, por exemplo, Ausubel, et al. Supra). A síntese química produz geralmente um oligonucleótido de cadeia simples, que pode ser convertido em ADN de cadeia dupla por hibridização com uma sequência complementar, ou por polimerização com uma polimerase de ADN utilizando a cadeia simples como um modelo. Um perito na técnica reconhecerá que enquanto a síntese química de ADN pode ser limitada a sequências de cerca de 100 ou mais bases, sequências mais longas podem ser obtidas por ligação de sequências mais curtas.

Cassetes de expressão recombinante

A presente invenção proporciona ainda cassetes de expressão recombinante compreendendo um ácido nucleico da presente invenção. Uma sequência de ácido nucleico da presente invenção, por exemplo, um cADN ou uma sequência genómica que codifica um anticorpo da presente invenção, pode ser utilizada para construir uma cassete de expressão recombinante que pode ser introduzida em pelo menos uma célula hospedeira desejada. Uma cassete de expressão recombinante compreenderá tipicamente um polinucleótido da presente invenção operacionalmente ligado a sequências reguladoras da iniciação da transcrição que irão dirigir a transcrição do polinucleótido na célula hospedeira pretendida. Ambos os promotores heterólogos e não heterólogos (ou seja, endógenos) podem ser empregues para dirigir a expressão dos ácidos nucleicos da presente invenção.

Em algumas formas de realização, os ácidos nucleicos isolados que servem como promotor, potenciador, ou outros elementos podem ser introduzidos na posição apropriada (a montante, a jusante ou no intrão) de uma forma não-heteróloga de um polinucleótido da presente invenção, de modo a subir ou descer a regulação da expressão de um polinucleótido da presente invenção. Por exemplo, os promotores endógenos podem ser alterados *in vivo* ou *in vitro*, por mutação, eliminação e/ou substituição.

Vetores e células hospedeiras

A presente invenção também se refere a vectores que incluem as moléculas isoladas de ácido nucleico da presente invenção, células hospedeiras que são geneticamente manipuladas com os vectores recombinantes e a produção de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 por técnicas recombinantes, como é bem conhecido na técnica. Ver, e.g., Sambrook, et al., supra, Ausubel, et al., supra.

Os polinucleótidos podem opcionalmente ser unidos a um vector que contém um marcador de seleção para propagação num hospedeiro. Geralmente, um vector plasmídeo é introduzido num precipitado, tal como um precipitado de fosfato de cálcio, ou num complexo com um lípido carregado. Se o vector for um vírus, pode ser empacotado *in vitro* utilizando uma linha celular de empacotamento apropriada e depois transduzido em células hospedeiras.

A inserção de ADN deve ser operativamente ligada a um promotor apropriado. As construções de expressão irão conter adicionalmente sítios para a iniciação da transcrição, terminação e, na região transcrita, um sítio

de ligação ao ribossoma para a tradução. A porção de codificação dos transcritos maturos expressa pelas construções incluirão de preferência, um início de tradução no começo e um codão de terminação (por exemplo, UAA, UGA ou UAG) apropriadamente posicionado no fim do mARN a ser traduzido, com UAA e UAG preferidos para a expressão em células de mamífero ou eucarióticas.

Os vectores de expressão irão incluir, opcionalmente, mas preferivelmente, pelo menos, um marcador selecionável. Tais marcadores incluem, por exemplo, mas não estão limitados a, metotrexato (MTX), di-hidrofolato-redutase (DHFR Patentes US 4399216; 4634665; 4656134; 4956288; 5149636; 5179017, ampicilina, neomicina (G418), ácido micofenólico, e glutamina sintetase (GS Patentes US 5122464; 5770359; 5827739) de resistência para a cultura de células eucarióticas, e os genes de resistência à tetraciclina ou ampicilina para cultura *em* E. *Coli* e outras bactérias ou procarióticos. Meios de cultura apropriados e as condições para as células hospedeiras acima descritas são conhecidos na técnica. Os vectores apropriados serão prontamente evidentes para um especialista na matéria. A introdução de um vector de construção para uma célula hospedeira pode ser efectuada por transfecção com fosfato de cálcio, transfecção mediada por dextrano DEAE, transfecção catiónica mediada por lípidos, electroporação, transdução, infecção ou outros métodos conhecidos. Tais métodos estão descritos na técnica, tais como Sambrook, supra, Capítulos 1-4 e 16-18; Ausubel, supra, Capítulos 1, 9, 13, 15, 16.

Pelo menos um anticorpo da presente invenção pode ser expresso numa forma modificada, tal como uma proteína de

fusão, e pode incluir não só sinais de secreção, mas também regiões funcionais heterólogas adicionais. Por exemplo, uma região de aminoácidos adicionais, em particular aminoácidos carregados, pode ser adicionada ao terminal N de um anticorpo para melhorar a estabilidade e persistência na célula hospedeira, durante a purificação ou durante a manipulação e armazenamento subsequentes. Além disso, porções de péptidos podem ser adicionadas a um anticorpo da presente invenção para facilitar a purificação. Tais regiões podem ser removidas antes da preparação final de um anticorpo ou, pelo menos, um seu fragmento. Tais métodos são descritos em muitos manuais de laboratório convencionais, tais como Sambrook, supra, Capítulos 17,29-17,42 e 18,1-18,74; Ausubel, supra, Capítulos 16, 17 e 18.

Os vulgares peritos na técnica são conhecedores dos numerosos sistemas de expressão disponíveis para expressão de um ácido nucleico que codifica uma proteína da presente invenção. Alternativamente, os ácidos nucleicos da presente invenção podem ser expressos numa célula hospedeira que se torna (por manipulação) numa célula hospedeira que contém ADN endógeno que codifica um anticorpo da presente invenção. Tais métodos são bem conhecidos na técnica, e.g., como descrito nas Patentes US 5580734, 5641670, 5733746, e 5733761.

Culturas de células úteis ilustrativas para a produção dos anticorpos, ou de porções determinadas variantes dos mesmos, são as células de mamíferos. Os sistemas de células de mamífero estarão muitas vezes na forma de monocamadas de células, embora as suspensões de células de mamífero ou birreatores possam também ser usadas. Um certo número de linhas de células hospedeiras adequadas, capazes

de expressar proteínas glicosiladas intactas foi desenvolvido na técnica, e incluem a COS-1 (por exemplo, ATCC CRL 1650), COS-7 (por exemplo, ATCC CRL-1651), HEK293, BHK21 (por exemplo, ATCC CRL-10), CHO (por exemplo, ATCC CRL 1610) e BSC-1 (por exemplo, ATCC CRL-26), linhas celulares de células COS-7, células CHO, células Hep G2, células P3x63Ag8.653, SP2/0-AG14, 293, células HeLa e semelhantes, que estão prontamente disponíveis a partir de, por exemplo, a American Type Culture Collection, Manassas, Va (www.atcc.org). As células hospedeiras preferidas incluem células de origem linfóide, tais como células de mieloma e linfoma. Células hospedeiras particularmente preferidas são as células P3x63Ag8.653 (número de acesso ATCC CRL-1580) e células SP2/0-Ag14 (número de acesso ATCC CRL-1851). Numa concretização particularmente preferida, a célula recombinante é uma célula P3X63Ab8.653 ou SP2/0-Ag14.

Os vectores de expressão para estas células podem incluir uma ou mais das seguintes sequências de controlo de expressão, tais como, mas não limitado a, uma origem de replicação, um promotor (por exemplo, promotores precoces ou atrasados de SV40, o promotor CMV (Patentes US 5168062; 5385839), o promotor tk HSV, o promotor pgk (fosfoglicerato quinase), o promotor EF-1 alfa (Patente US 5266491), pelo menos um promotor de imunoglobulina humana; um potenciador e/ou sítios de processamento de informação, tais como sítios de ligação ao ribossoma, sítios de união de ARN, sítios de poliadenilação (por exemplo, um sítio de adição SV40 grande T Ag poli A), e sequências de terminação da transcrição. Ver, por exemplo, Ausubel et al., supra, Sambrook, et al., supra. Outras células úteis para a produção de ácidos nucleicos ou proteínas da presente

invenção são conhecidas e/ou estão disponíveis, por exemplo, a partir da American Type Culture Collection Catalogue of Cell Lines and Hybridomas (www.atcc.org) ou outras fontes conhecidas ou comerciais.

Quando as células hospedeiras eucarióticas são empregues, sequências de terminação da poliadenilação ou da transcrição são tipicamente incorporadas no vector. Um exemplo de uma sequência de terminação é a sequência de poliadenilação do gene da hormona de crescimento bovina. Sequências para a união precisa da transcrição também podem ser incluídas. Um exemplo de uma sequência de união é o intrão VP1 de SV40 (Sprague, et al. Virol. 45:773-781 (1983)). Além disso, as sequências de genes para controlar a replicação na célula hospedeira podem ser incorporadas no vector, como conhecido na técnica.

Purificação de um anticorpo

Um anticorpo anti-IL-23p19 pode ser recuperado e purificado a partir de culturas de células recombinantes por métodos bem conhecidos, incluindo, mas não se limitando a, purificação de proteína A, precipitação de sulfato de amónio ou etanol, extração ácida, cromatografia de troca aniónica ou catiónica, cromatografia com fosfocelulose, cromatografia de interação hidrofóbica, cromatografia de afinidade, cromatografia de hidroxilapatite e cromatografia de lectina. Também pode ser utilizada cromatografia líquida de alto desempenho ("HPLC") para a purificação. Ver, por exemplo, Colligan, Current Protocols in Immunology ou Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, Nova Iorque, NY, (1997-2001), por exemplo, os capítulos 1, 4, 6, 8, 9, 10.

Os anticorpos da presente invenção incluem produtos naturalmente purificados, produtos de procedimentos sintéticos químicos e produtos produzidos através de técnicas recombinantes a partir de um hospedeiro eucariota, incluindo, por exemplo, células de levedura, plantas superiores, insectos e de mamíferos. Dependendo do hospedeiro empregue num procedimento de produção recombinante, o anticorpo da presente invenção pode ser glicosilado ou pode ser não-glicosilado, com preferência por glicosilado. Tais métodos são descritos em muitos manuais de laboratório convencionais, tais como Sambrook, supra, secções 17,37-17,42; Ausubel, supra, Capítulos 10, 12, 13, 16, 18 e 20, Colligan, Protein Science, supra, Capítulos 12-14.

Anticorpos anti-IL-23p19

Um anticorpo anti-IL-23p19 de acordo com a presente invenção, inclui qualquer proteína ou péptido contendo molécula que compreende pelo menos uma porção de uma molécula de imunoglobulina, tal como, mas não limitada a, pelo menos, uma porção de ligação ao ligando (LBP), tais como, mas não se limitando a, uma região determinante de complementaridade (CDR) de uma cadeia pesada ou leve ou uma porção ligando de ligação da mesma, uma região variável de cadeia pesada ou de cadeia leve, uma região de estrutura (por exemplo, FR1, FR2, FR3, FR4, ou um seu fragmento, compreendendo ainda opcionalmente pelo menos uma substituição, inserção ou deleção), uma região constante de cadeia pesada ou de cadeia leve (por exemplo, compreendendo pelo menos um CH1, hinge1, hinge2, hinge3, hinge4, CH2 ou CH3 ou um seu fragmento, compreendendo ainda opcionalmente pelo menos uma substituição, inserção ou deleção), ou qualquer porção do mesmo, que pode ser incorporada num um anticorpo da presente invenção. Um anticorpo da invenção

pode incluir ou ser derivado de qualquer mamífero, tal como, mas não limitado a, um ser humano, um rato, um coelho, um roedor, um primata, ou qualquer combinação dos mesmos, e semelhantes.

Os anticorpos isolados da presente invenção compreendem as sequências de aminoácidos de anticorpos aqui divulgados codificadas por qualquer polinucleótido adequado, ou qualquer anticorpo isolado ou preparado. De preferência, o anticorpo humano ou fragmento de ligação ao antigénio liga-se a IL-23p19 humano e, desse modo, neutraliza parcialmente ou substancialmente, pelo menos, uma atividade biológica da proteína. Um anticorpo, ou porção especificada ou variante do mesmo, que neutraliza parcialmente ou, de preferência substancialmente, pelo menos, uma atividade biológica de, pelo menos, uma proteína IL-23 ou fragmento pode ligar a proteína ou fragmento e desse modo inibir as atividades mediadas através da ligação de IL-23 um ou mais dos receptores de IL-23 ou através de outros mecanismos de IL-23 dependentes ou mediados. Tal como aqui utilizado, o termo "anticorpo neutralizante" refere-se a um anticorpo que pode inibir uma atividade de IL-23 dependente em cerca de 20-120%, preferivelmente em pelo menos cerca de 10, 20, 30, 40, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% ou mais dependendo do ensaio.

A capacidade de um anticorpo anti-IL-23p19 para inibir uma atividade de IL-23 dependente é preferencialmente avaliada por, pelo menos, um ensaio de proteína IL-23 ou um receptor adequado, tal como aqui descrito e/ou como conhecido na técnica. Um anticorpo humano da invenção pode ser de qualquer classe (IgG, IgA, IgM, IgE, IgD, etc.) ou isótipo e pode compreender uma cadeia leve capa ou lambda. Numa

concretização, o anticorpo humano compreende uma cadeia pesada de IgG ou um fragmento definido, por exemplo, pelo menos um dos isótipos, IgG1, IgG2, IgG3 ou IgG4 (por exemplo, γ1, γ2, γ3 ou γ4).

Os anticorpos deste tipo podem ser preparados empregando um ratinho transgénico ou outros mamíferos não humanos transgénicos que compreendem pelo menos transgenes de uma cadeia leve humana (por exemplo, IgG, IgA e IgM) como aqui descrito e/ou como conhecido na técnica. Noutra concretização, o anticorpo IL-23p19 anti-humano compreende uma cadeia pesada de IgG1 e uma cadeia leve de IgG1.

Pelo menos um dos anticorpos aqui descritos liga, pelo menos, um epítopo especificado específico para, pelo menos, uma proteína IL-23p19, subunidade, fragmento, ou porção de uma combinação destes. Pelo menos um epítopo pode compreender, pelo menos, uma região de ligação ao anticorpo que compreende pelo menos uma porção da proteína, cujo epítopo é de preferência constituído por pelo menos uma porção extracelular solúvel, hidrófila, externa ou citoplasmática da proteína. Pelo menos, um epítopo especificado pode compreender qualquer combinação de pelo menos uma sequência de aminoácidos de pelo menos 1-3 aminoácidos para toda a porção especificada de aminoácidos contíguos dos resíduos de aminoácidos 93-104 e 127-137 da SEQ ID N°: 1 (que contém a sequência de sinal inicial do aminoácido 19 para a subunidade da proteína p19) (ou os resíduos de aminoácidos 74-85 e 108-118 da sequência de p19 sem a inclusão da sequência de sinal), por exemplo, os resíduos de aminoácidos 93, 93-94, 93-95, 93-96, 97-99, 100-102, 127, 127-128, 128-129, etc., de SEQ ID N°: 1,

etc., que incluem quaisquer porções ou combinações destas sequências.

Em geral, o fragmento de anticorpo da presente invenção ou de ligação ao antigénio compreendem uma região de ligação ao antigénio, que compreende pelo menos uma região determinante de complementaridade (CDR1, CDR2 e CDR3) ou a variante de pelo menos uma região variável da cadeia pesada e, pelo menos, uma região determinante de complementaridade (CDR1, CDR2 e CDR3) ou a variante de pelo menos uma região variável de cadeia leve. Opcionalmente, as sequências de CDR podem ser derivadas a partir das sequências da linha germinativa humana ou que se aproximam das sequências da linha germinativa. Por exemplo, as CDRs de uma biblioteca sintética derivada a partir das CDRs de ratinho originais podem ser usadas. Estas CDRs podem ser formadas por incorporação de substituições conservadoras a partir da sequência original do rato. Como um exemplo não limitativo, o anticorpo, ou porção de ligação ao antigénio ou a variante pode compreender, pelo menos, um da cadeia pesada CDR3 de, por exemplo, selecionado a partir das SEQ ID N°s: 6, 16, 26, e 36, e/ou uma cadeia leve CDR3, por exemplo, selecionado a partir das SEQ ID N°s: 11, 21, 31 e 41. Numa concretização particular, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antigénio pode ter uma região de ligação ao antigénio, que compreende pelo menos uma porção de pelo menos uma CDR de cadeia pesada (isto é, CDR1, CDR2 e/ou CDR3) (por exemplo, aquelas aqui descritas). Numa outra forma de realização particular, o anticorpo, ou porção de ligação ao antigénio ou variante pode ter uma região de ligação ao antigénio, que compreende pelo menos uma porção de pelo menos uma CDR de cadeia leve (isto é, CDR1, CDR2 e/ou CDR3) (por exemplo, aquelas aqui descritas).

Numa concretização preferida, as três CDR de cadeias pesadas e as três CDRs de cadeia leve do anticorpo ou fragmento de ligação ao antigénio podem ser preparadas pela união química das várias porções (por exemplo, CDR, estrutura) do anticorpo utilizando técnicas convencionais, através da preparação e expressão de uma molécula de ácido nucleico (isto é, uma ou mais) que codifica o anticorpo utilizando técnicas convencionais da tecnologia de ADN recombinante ou utilizando qualquer outro método adequado.

O anticorpo anti-IL-23p19 pode compreender, pelo menos, um de uma região variável da cadeia pesada ou leve com uma sequência de aminoácidos definida. Por exemplo, numa concretização preferida, o anticorpo anti-IL-23p19 compreende pelo menos uma região variável de cadeia pesada opcionalmente selecionada a partir das SEQ ID N°s: 3, 13, 23, e 33 e/ou, pelo menos, uma região variável de cadeia leve, opcionalmente selecionada a partir das SEQ ID N°s: 8, 18, 28, e 38. Anticorpos que se ligam a IL-23p19 humano e que compreendem uma região variável da cadeia pesada ou leve definida podem ser preparados usando métodos adequados, tais como a apresentação de fagos (Katsube, Y., et al., Int J Mol. Med, 1 (5):863-868 (1998)), ou métodos que utilizam animais transgénicos, tal como conhecido na técnica e/ou como aqui descrito. Por exemplo, um ratinho transgénico compreendendo um transgene de imunoglobulina humana de cadeia pesada funcionalmente rearranjado e um transgene compreendendo ADN de um locus de cadeia leve de imunoglobulina humana que pode sofrer rearranjo funcional, pode ser imunizado com IL-23 humano ou um seu fragmento para induzir a produção de anticorpos.

Se desejado, as células que produzem os anticorpos podem ser isoladas e os hibridomas ou outras células produtoras

de anticorpos imortalizados podem ser preparados como aqui descrito e/ou como conhecido na técnica. Alternativamente, o anticorpo, ou porção variante especificada, pode ser expressa usando o ácido nucleico codificado ou parte do mesmo numa célula hospedeira adequada.

Códigos de aminoácidos

Os aminoácidos que compõem os anticorpos anti-IL-23p19 da presente invenção são muitas vezes abreviados. As designações dos aminoácidos podem ser indicadas por designação do aminoácido pelo seu código de letra única, o seu código de três letras, nome, ou três codões de nucleótidos (s), como é bem compreendido na técnica (veja Alberts, B., et al., Molecular Biology of the Cell, Third ed., Garland Publishing, Inc., New York, 1994). Um anticorpo anti-IL-23p19 da presente invenção pode incluir uma ou mais substituições de aminoácidos, deleções ou adições, quer por mutações naturais ou por manipulação humana, como aqui especificado. Os aminoácidos num anticorpo anti-IL-23p19 da presente invenção que são essenciais para a função podem ser identificados por métodos conhecidos na técnica, tais como mutagénese de sítio dirigida ou a mutagénese de varrimento de alanina (por exemplo, Ausubel, supra capítulos 8, 15; Cunningham e Wells, Science 244:1081-1085 (1989)). Este último procedimento introduz mutações de alanina única em todos os resíduos da molécula. As moléculas mutantes resultantes são então testadas quanto à atividade biológica, tal como, mas não limitadas a, pelo menos, uma atividade de IL-23 neutralizante. Os sítios que são críticos para a ligação de anticorpos também podem ser identificados por análise estrutural tal como a cristalização, a ressonância magnética nuclear ou a marcação por fotoafinidade (Smith,

et al., J. Mol.. Biol. 224:899-904 (1992) e de Vos, et al., Science 255:306-312 (1992)).

Os anticorpos anti-IL-23p19 da presente invenção podem incluir, mas não estão limitados a, pelo menos, uma porção, sequência ou combinação selecionada a partir de 5 de todos os aminoácidos contíguos das sequências de região variável de SEQ ID N°s: 8, 18, 28, e 38 e SEQ ID N°s: 3, 13, 23 e 33.

Variantes não limitativas que podem melhorar ou manter, pelo menos, uma das atividades mencionadas incluem, mas não estão limitadas a, qualquer um dos polipeptídeos acima referidos, que compreendem ainda pelo menos uma mutação correspondente a pelo menos uma substituição nos resíduos variando entre a variante divulgada de sequências de aminoácidos.

Um anticorpo anti-IL-23p19 pode ainda compreender, opcionalmente, um polipeptídeo com uma sequência de aminoácidos que varia a partir da sequência de SEQ ID N°s: 3-6, 8-11, 13-16, 18-21, 23-26, 28-31, 33-36, e 38-41 (por exemplo, uma ou mais substituições conservadoras a partir das sequências aqui proporcionadas). Além disso, a presente invenção compreende variantes da sequência de aminoácidos de uma região variável de cadeia leve de SEQ ID N°s: 8, 18, 28 e 38 ou a sequência de aminoácidos de uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID N°s: 3, 13 , 23, e 33.

Como os especialistas compreenderão, a presente invenção inclui, pelo menos, um anticorpo biologicamente ativo da

presente invenção. Os anticorpos biologicamente ativos têm uma atividade específica pelo menos 20%, 30%, ou 40%, e, de preferência, pelo menos, 50%, 60%, ou 70%, e, mais preferencialmente, pelo menos, 80%, 90%, ou 95 %-1000% ou mais do que a do anticorpo nativo (não sintético), endógeno ou afim conhecido. Os métodos de ensaio e medidas de quantificação da atividade enzimática e especificidade de substrato são bem conhecidos dos peritos na técnica.

Num outro aspecto, a invenção refere-se a anticorpos humanos e fragmentos de ligação ao antigénio, como aqui descritos, que são modificados pela ligação covalente de um grupo orgânico. Tal modificação pode produzir um anticorpo ou fragmento de ligação ao antigénio com propriedades farmacocinéticas melhoradas (por exemplo, semivida no soro *in vivo* aumentada). O radical orgânico pode ser um grupo polimérico hidrófilo de cadeia linear ou ramificada, um grupo de ácido gordo ou um grupo éster de ácido gordo. Em concretizações particulares, o grupo hidrófilo polimérico pode ter um peso molecular de cerca de 800 a cerca de 120000 Daltons e pode ser um glicol polialquileno (por exemplo, polietileno glicol (PEG), polipropileno glicol (PPG)), polímero de hidratos de carbono, polímeros de aminoácidos ou polivinil pirrolidona, e ácido gordo ou grupo éster de ácido gordo pode compreender de cerca de oito a cerca de quarenta átomos de carbono.

Os anticorpos modificados e fragmentos de ligação ao antigénio da invenção pode compreender uma ou mais porções orgânicas que são covalentemente ligadas, direta ou indiretamente, ao anticorpo. Cada grupo orgânico que está ligado a um anticorpo ou fragmento de ligação ao antigénio da invenção pode ser, independentemente, um grupo

polimérico hidrófilo, um grupo de ácido gordo ou um grupo éster de ácido gordo. Tal como aqui utilizado, o termo "ácido gordo" engloba os ácidos mono-carboxílicos e ácidos dicarboxílicos. Um "grupo hidrófilo polimérico", tal como o termo é aqui utilizado, refere-se a um polímero orgânico que é mais solúvel em água do que em octano. Por exemplo, a polilisina é mais solúvel em água do que em octano. Assim, um anticorpo modificado pela ligação covalente de polilisina é englobado pela invenção. Os polímeros hidrofílicos adequados para modificar anticorpos da invenção podem ser lineares ou ramificados e incluem, por exemplo, glicóis polialquilenos (por exemplo, PEG, monometoxi-polietilenoglicol (mPEG), PPG e semelhantes), hidratos de carbono (por exemplo, dextrano, celulose, oligossacáridos, polissacáridos e semelhantes), polímeros de aminoácidos hidrofílicos (por exemplo, polilisina, poliarginina, poliaspartato e semelhantes), óxidos polialquilenos (por exemplo, óxido de polietileno, óxido de polipropileno e semelhantes) e polivinil pirrolidona. De preferência, o polímero hidrofílico que modifica o anticorpo da invenção tem um peso molecular de cerca de 800 a cerca de 150000 Daltons como uma entidade molecular separada. Por exemplo, o PEG_{5000} e PEG_{20000}, em que o subscrito é o peso molecular médio do polímero em Daltons, podem ser usados. O grupo polimérico hidrófilo pode ser substituído com um a cerca de seis grupos alquilo, grupos de ácidos gordos ou de ésteres de ácidos gordos. Os polímeros hidrofílicos que são substituídos com um ácido gordo ou éster de ácido gordo do grupo podem ser preparados através do emprego de métodos adequados Por exemplo, um polímero compreendendo um grupo amina pode ser acoplado a um carboxilato do ácido gordo ou éster de ácido gordo, e um carboxilato ativado (por exemplo, activado com N, N-carbonildiimidazole) num ácido gordo ou éster de ácido

gordo pode ser acoplado a um grupo hidroxilo de um polímero.

Os ácidos gordos e ésteres de ácidos gordos adequados para modificar anticorpos da invenção podem ser saturados ou podem conter uma ou mais unidades de insaturação. Ácidos gordos que são adequados para modificar anticorpos da invenção incluem, por exemplo, n-dodecanoato (C_{12}, laurato), n-tetradecanoato (C_{14}, miristato), n-octadecanoato (C_{18}, estearato), n-eicosanoato (C_{20}, araquidato), n-docosanoato (C_{22}, beenato), n-triacontanoate (C_{30}), n-tetracontanoate (C_{40}), *cis-Δ9*-octadecanoato (C_{18}, oleato), todo *cis-Δ5*,8,11,14-eicosatetraenoate (C_{20}, araquidonato), ácido octanedioico, ácido tetradecanedioico, ácido octadecanedioico, ácido docosanedioico, e semelhantes. Ésteres de ácidos gordos adequados incluem os monoésteres de ácidos dicarboxílicos, que compreendem um grupo alquilo inferior linear ou ramificado. O grupo alquilo inferior pode compreender desde um a cerca de doze, de preferência, um a cerca de seis átomos de carbono.

Os anticorpos humanos modificados e fragmentos de ligação ao antigénio podem ser preparados usando métodos adequados, como por exemplo por reação com um ou mais agentes modificadores. Um "agente de modificação" como o termo é aqui utilizado, refere-se a um grupo orgânico adequado (por exemplo, um polímero hidrofílico, um ácido gordo, um éster de ácido gordo) que compreende um grupo de ativação. Um "grupo de ativação" é uma porção química ou grupo funcional que pode, sob condições apropriadas, reagir com um segundo grupo químico, formando assim uma ligação covalente entre o agente de modificação e o segundo grupo de produtos químicos. Por exemplo, grupos de ativação amino-reativos

incluem grupos electrófilos, tais como tosilato, mesilato, halo (cloro, bromo, flúor, iodo), ésteres de N-hidroxissuccinimidilo (NHS), e semelhantes. Grupos de ativação que podem reagir com tióis incluem, por exemplo, maleimida, iodoacetilo, acrilolilo, dissulfuretos de piridilo, ácido 5-tiol-2-nitrobenzco tiol (TNB-tiol), e semelhantes. Um grupo funcional aldeído pode ser acoplado às moléculas contendo amina ou hidrazida, e um grupo azida pode reagir com um grupo fosforoso trivalente para formar ligações fosforamidato ou fosforimida. Os métodos adequados para introduzir grupos de ativação em moléculas são conhecidotécnica (ver, por exemplo, Hermanson, G.T., Bioconjugate Techniques, Academic Press: San Diego, CA (1996)). Um grupo de ativação pode ser ligado diretamente ao grupo orgânico (por exemplo, um polímero hidrofílico, ácido gordo, éster de ácido gordo), ou através de uma porção ligante, por exemplo, um grupo bivalente C_1-C_{12}, em que um ou mais átomos de carbono podem ser substituído por um heteroátomo, tal como oxigénio, azoto ou enxofre. Porções ligantes adequadas incluem, por exemplo, tetraetilenoglicol, $-(CH_2)_{3-}$, $-NH-(CH_2)_6-NH-$, $(CH_2)_2-NH$ e $-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-CH-NH-$. Agentes modificadores que compreendem uma porção ligante podem ser produzidos, por exemplo, por reação de um mono-Boc-alquildiamina (por exemplo, mono-Boc-etilenodiamina, mono-Boc-diamino-hexano) com um ácido gordo, na presença de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) para formar uma ligação amida entre a amina livre e o carboxilato de ácido gordo. O grupo protetor Boc pode ser removido do produto por tratamento com ácido trifluoroacético (TFA) para expor uma amina primária que pode ser acoplada a outro carboxilato como descrito, ou pode ser feito reagir com anidrido maleico e o produto resultante ciclizado para

produzir um derivado maleimido ativado do ácido gordo. (Ver, por exemplo, Thompson, et al., WO 92/16221).

Os anticorpos modificados da invenção podem ser produzidos fazendo reagir um anticorpo humano ou um fragmento de ligação ao antigénio com um agente de modificação. Por exemplo, as porções orgânicas podem ser ligadas ao anticorpo de uma forma não específica no sítio, empregando um agente de modificação amino-reativo, por exemplo, um éster NHS de PEG. Os anticorpos humanos modificados ou fragmentos de ligação ao antigénio podem também ser preparados por redução de ligações dissulfureto (por exemplo, ligações intra-cadeia de dissulfureto) de um anticorpo ou fragmento de ligação ao antigénio. O anticorpo reduzido, ou fragmento de ligação ao antigénio pode então ser feito reagir com um agente de modificação tiol-reativo para produzir o anticorpo modificado da invenção. Fragmentos de anticorpos humanos modificados e de ligação ao antigénio compreendendo uma porção orgânica que é ligada a sítios específicos de um anticorpo da presente invenção pode ser preparado usando métodos adequados, tais como proteólise reversa (Fisch et al., Bioconjugate Chem., 3:147-153 (1992); Werlen et al., Bioconjugate Chem., 5:411-417 (1994); Kumaran et al., Proteína Sci. 6 (10):2233-2241 (1997); Itoh et al., Bioorg. Chem, 24 (1):59-68 (1996); Capellas et al., Biotechnol. Bioeng., 56(4):456-463 (1997)), e os métodos descritos em Hermanson, G.T., Bioconjugate Techniques, Academic Press: San Diego, CA (1996).

Composições de anticorpos compreendendo ingredientes adicionais terapeuticamente ativos

As composições de anticorpos da invenção podem opcionalmente compreender ainda uma quantidade eficaz de pelo menos um composto ou uma proteína selecionada a partir de, pelo menos, um medicamento anti-infeccioso, um medicamento do sistema cardiovascular (CV), um medicamento do sistema nervoso central (SNC), um medicamento do sistema nervoso autónomo (SNA), um medicamento do trato respiratório, um medicamento do trato gastrointestinal (GI), um medicamento hormonal, um medicamento para o fluído ou equilíbrio eletrolítico, um medicamento hematológico, um antineoplásico, um medicamento de imunomodulação, um medicamento oftálmico, ótica ou nasal, um medicamento tópico, um medicamento nutricional ou semelhante. Tais medicamentos são bem conhecidos na técnica, incluindo as formulações, as indicações, a dosagem e a administração para cada um aqui apresentado (ver, por exemplo, Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21ª edição, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; Health Professional's Drug Guide 2001, ed. Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ; Pharmcotherapy Handbook, Wells et al., Ed., Appleton & Lange, Stamford, CT.

Pelo menos, um corticosteróide pode ser, pelo menos, selecionado a partir de betametasona, acetato de betametasona e fosfato sódico de betametasona, fosfato de betametasona de sódio, acetato de cortisona, dexametasona, acetato de dexametasona, fosfato sódico de dexametasona, acetato de fludrocortisona, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, cipionato de hidrocortisona, hidrocortisona sódio fosfato, succinato sódico de hidrocortisona, metilprednisolona, acetato de metilprednisolona, succinato

sódico de metilprednisolona, prednisolona, acetato de prednisolona, fosfato sódico de prednisolona, tebutate prednisolona, prednisona, triamcinolona, acetonida de triamcinolona, e diacetato de triamcinolona.

Pelo menos um imunossupressor pode ser, pelo menos, selecionado a partir de azatioprina, basiliximab, ciclosporina, daclizumab, globulina imune de linfócitos, muromonab-CD3, micofenolato de mofetil, cloridrato de micofenolato de mofetil, sirolimus e tacrolimus.

Pelo menos um corticosteróide tópico pode ser pelo menos selecionado a partir de dipropionato de betametasona, valerato de betametasona, propionato de clobetasol, desonida, desoximetasone, dexametasona, fosfato de sódio dexametasone, diacetato de diflorasona, acetonida de fluocinolona, fluocinonida, flurandrenolide, propionato de fluticasona, halcionide, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, valerato de hidrocortisona, furoato de mometasona e acetonido de triamcinolona. (Ver, por exemplo, pp 1098-1136 de Nursing 2001 Drug Handbook).

As composições de anticorpo anti-IL-23p19 da presente invenção podem ainda compreender, pelo menos, uma de qualquer quantidade adequada e eficaz de uma composição ou formulação farmacêutica compreendendo pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 adequado para contactar ou administrar a uma célula, tecido, órgão, animal ou doente em necessidade de tal modulação, tratamento ou terapia, que compreende ainda, opcionalmente, pelo menos um selecionado a partir de, pelo menos, um antagonista de TNF (por

exemplo, mas não limitado a um produto químico de TNF ou proteína antagonista, anticorpo TNF monoclonal ou policlonal ou seu fragmento, um receptor solúvel de TNF (por exemplo, p55, p70 ou p85) ou fragmento, polipeptídeos de fusão dos mesmos, ou uma pequena molécula antagonista de TNF, por exemplo, uma proteína de ligação TNF I ou II (TBP-1 ou TBP-II), nerelimonmab, infliximab, etanercept, CDP-571, CDP-870, afelimomab, lenercept, e semelhantes), um antirreumático (por exemplo, metotrexato, auranofina, aurotioglucose, azatioprina, etanercept, tiomalato de ouro de sódio, sulfato de hidroxicloroquina, leflunomida, sulfasalzine), um relaxante muscular, um narcótico, uma medicamento anti-inflamatório não-esteróide (AINE), um analgésico, um anestésico, um sedativo, um anestésico local, um bloqueador neuromuscular, um antimicrobiano (por exemplo, aminoglicósidos, um antifúngico, um antiparasitário, um antiviral, um carbapenemo, cefalosporina, um flurorquinolone, um macrolido, uma penicilina, uma sulfonamida, uma tetraciclina, outro antimicrobiano), um antipsoriático, um corticosteróide, um esteroide anabólico, um agente relacionado com a diabetes, um agente mineral, nutricional, da tiróide, uma vitamina, uma hormona relacionada de cálcio, um antidiarreico, um antitússico, um antiemético, um anti-ulceroso, um laxante, um anticoagulante, uma eritropoietina (por exemplo, a epoetina alfa), um filgrastim (por exemplo, G-CSF, Neupogen), um sargramostim (GM-CSF, Leucina), uma imunização, uma imunoglobulina, um imunossupressor (por exemplo, basiliximab, ciclosporina, daclizumab), uma hormona de crescimento, um medicamento de substituição hormonal, um modulador de receptor de estrogénio, um midriático, um cicloplégico, um agente alquilante, um antimetabolito, um mitótico inibidor, um radiofármaco, um agente antimaníaco antidepressivo, um antipsicótico, um

ansiolítico, um hipnótico, um simpatomimético, um estimulante, donepezil, tacrina, medicamento para a asma, um agonista beta, um esteróide inalado, um inibidor de leucotrienos, uma metilxantina, uma cromolina, uma epinefrina ou análogo, dornase-alfa (Pulmozime), uma citocina ou um antagonista da citocina. Exemplos não limitativos de tais citocinas incluem, mas não estão limitadas a qualquer de IL-1 a IL-28 (por exemplo, IL-1, IL-2, etc.) As dosagens adequadas são bem conhecidas na técnica. Ver, por exemplo, Wells et al. Eds., Pharmacotherapy Handbook, 2nd Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000).

Compostos de anticorpo anti-IL-23p19, composições ou combinações da presente invenção podem ainda compreender, pelo menos, um de qualquer auxiliar adequado, tal como, mas não limitado a, um diluente, ligante, estabilizador, tampões, sais, solventes lipófilicos, conservante, adjuvante ou semelhantes. São preferidos auxiliares farmaceuticamente aceitáveis. Exemplos não limitativos de, e métodos de preparação de tais soluções estéreis são bem conhecidos na técnica, tais como, mas não limitado a, Gennaro, Ed., Remington´s Pharmaceutical Sciences, 18ª Edição, Mack Publishing Co. (Easton, PA) 1990. Transportadores farmaceuticamente aceitáveis podem ser rotineiramente selecionados daqueles que são adequados para o modo de administração, solubilidade e/ou estabilidade do anticorpo anti-IL-23p19, fragmento ou variante de composição, como bem conhecido na técnica ou como aqui descrito.

Excipientes e aditivos farmacêuticos úteis na presente composição incluem, mas não estão limitados a, proteínas, peptídeos, aminoácidos, lípidos e hidratos de carbono (por exemplo, açúcares, incluindo monosacáridos, di-, tri-, tetra-, e oligossacáridos, açúcares derivatizados, tais como alditóis, ácidos aldónicos, açúcares esterificados e semelhantes; e os polissacáridos ou polímeros de açúcar), que podem estar presentes isoladamente ou em combinação, compreendendo isoladamente ou em combinação 1-99,99% em peso ou volume. Exemplos de proteínas excipientes incluem albumina do soro, tais como albumina do soro humano (HSA), albumina humana recombinante (rHA), gelatina, caseína e semelhantes. Componentes aminoácido/anticorpo representativos, os quais também podem funcionar numa capacidade tamponante, incluem alanina, glicina, arginina, betaína, histidina, ácido glutâmico, ácido aspártico, cisteína, lisina, leucina, isoleucina, valina, metionina, fenilalanina, aspartame, e semelhantes. Um aminoácido preferido é a glicina.

Os excipientes hidratos de carbono adequados para utilização na invenção incluem, por exemplo, os monossacáridos, tais como frutose, maltose, galactose, glicose, D-manose, sorbose, e semelhantes; dissacáridos, tais como lactose, sacarose, trealose, celobiose e semelhantes; polissacáridos, tais como a rafinose, melezitose, maltodextrinas, dextranos, amidos e semelhantes; e alditóis, tais como manitol, xilitol, maltitol, lactitol, xilitol sorbitol (glucitol), mioinositol e semelhantes. Os excipientes de hidratos de carbono preferidos para utilização na presente invenção são manitol, trealose e rafinose.

As composições de anticorpo anti-IL-23p19 também podem incluir um tampão ou um agente de ajuste de pH; normalmente, o tampão é um sal preparado a partir de um ácido orgânico ou uma base. Tampões representativos incluem sais de ácidos orgânicos, tais como sais de ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido glucónico, ácido carbónico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido acético, ou ácido itálico; Tris, cloridrato de trometamina ou tampões de fosfato. Os tampões preferidos para uso nas presentes composições são os sais de ácidos orgânicos, tais como citrato.

Além disso, composições de anticorpo anti-IL-23p19 da invenção podem incluir excipientes/aditivos poliméricos, tais como polivinilpirrolidonas, ficoles (um açúcar polimérico), dextratos (por exemplo, ciclodextrinas, tais como 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina), polietileno glicóis, agentes aromatizantes, agentes antimicrobianos, adoçantes, antioxidantes, agentes anti-estáticos, agentes tensioactivos (por exemplo, os polissorbatos, tais como "Tween 20" e "Tween 80"), lípidos (por exemplo, fosfolípidos, ácidos gordos), esteróides (por exemplo, colesterol) e agentes quelantes (por exemplo, EDTA).

Estes e outros excipientes farmacêuticos conhecidos e/ou aditivos são adequados para utilização no anticorpo anti-IL-23p19, ou porção de variante de composições de acordo com a invenção são conhecidos na técnica, por exemplo, como listado em "Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19a ed, Williams & Williams (1995), e no "Physician's Desk Reference", 52ª ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), cujas revelações são aqui inteiramente incorporadas por referência. Materiais transportadores ou excipientes

preferidos são os carboidratos (por exemplo, sacarídeos e alditóis) e tampões (por exemplo, citrato) ou agentes poliméricos. Uma molécula transportadora exemplar é o mucopolissacarídeo, ácido hialurónico, que pode ser útil para a entrega intra-articular.

Formulações

Como observado acima, a invenção proporciona formulações estáveis, que compreendem de preferência um tampão fosfato com solução salina ou um sal escolhido, assim como as soluções e formulações conservadas contendo um conservante bem como formulações conservadas multi-uso adequadas para utilização farmacêutica ou veterinária, que compreende pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 numa formulação farmaceuticamente aceitável. Formulações conservados contendo, pelo menos, um conservante conhecido ou, opcionalmente, selecionado de entre o grupo constituído por, pelo menos, um fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, álcool benzílico, nitrito fenilmercúrico, fenoxietanol, formaldeído, clorobutanol, cloreto de magnésio (por exemplo, hexa-hidrato), alquilparabeno (metilo, etilo, propilo, butilo e semelhantes), cloreto de benzalcónio, cloreto de benzetónio, dehidroacetato de sódio e timerosal, polímeros, ou suas misturas num diluente aquoso. Qualquer concentração ou a mistura adequada pode ser usada tal como é conhecido na técnica, tal como cerca de 0,0015%, ou qualquer intervalo, valor ou fracção aí contida. Exemplos não limitativos incluem, sem conservante, cerca de 0,1-2% de m-cresol (por exemplo, 0,2, 0,3. 0,4, 0,5, 0,9, 1,0%), cerca de 0,1-3% de álcool benzílico (por exemplo, 0,5, 0,9, 1,1, 1,5, 1,9, 2,0, 2,5%), cerca de 0,001-0,5% de timerosal (por exemplo, 0,005, 0,01), cerca de 0,001-2,0% de fenol (por exemplo, 0,05, 0,25, 0,28, 0,5, 0,9, 1,0%), 0,0005-1,0 % de alquilparabeno (s) (por

exemplo, 0,00075, 0,0009, 0,001, 0,002, 0,005, 0,0075, 0,009, 0,01, 0,02, 0,05, 0,075, 0,09, 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 0,75, 0,9, 1,0%), e semelhantes.

Como observado acima, a invenção proporciona um artigo manufacturado, compreendendo material de embalagem e, pelo menos, um frasco compreendendo uma solução de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 com os tampões prescritos e/ou conservantes, opcionalmente num diluente aquoso, em que o referido material de embalagem compreende um rótulo que indica que tal solução pode ser mantida durante um período de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 40, 48, 54, 60, 66, 72 horas ou mais. A invenção compreende ainda um artigo manufacturado compreendendo material de embalagem, um primeiro frasco compreendendo pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 liofilizado, e um segundo frasco compreendendo um diluente aquoso do tampão ou conservante prescrito, em que o referido material de embalagem inclui um rótulo que instrui um paciente como reconstituir, pelo menos, um anticorpo anti-IL-23p19 no diluente aquoso para formar uma solução que pode ser mantida durante um período de 24 horas ou mais.

Pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 utilizado de acordo com a presente invenção pode ser produzido por meios recombinantes, incluindo a partir de células de mamíferos ou preparações transgénicas, ou pode ser purificado a partir de outras fontes biológicas, como aqui descrito ou como conhecido na técnica.

A gama de, pelo menos, um anticorpo anti-IL-23p19 no produto da presente invenção inclui quantidades que

produzam depois da reconstituição, se num sistema húmido/seco, concentrações desde cerca de 1,0 µg/ml a cerca de 1000 mg/ml, embora concentrações inferiores e mais elevadas sejam operáveis e estejam dependentes do veículo de entrega pretendido, por exemplo, formulações em solução irão diferir do sistema transdérmico, pulmonar, transmucoso, ou osmótico ou micro métodos da bomba.

De preferência, o diluente aquoso compreende ainda opcionalmente um conservante farmaceuticamente aceitável. Os conservantes preferidos incluem aqueles selecionados a partir do grupo consistindo em fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, álcool benzílico, alquilparabeno (metilo, etilo, propilo, butilo e semelhantes), cloreto de benzalcónio, cloreto de benzetónio, dehidroacetato de sódio e timerosal, ou as suas misturas. A concentração do conservante usaoa na formulação é uma concentração suficiente para produzir um efeito anti-microbiano. Tais concentrações estão dependentes do conservante selecionado e são facilmente determinadas pelo perito na técnica.

Outros excipientes, por exemplo, agentes de isotonicidade, tampões, antioxidantes, conservantes e potenciadores, podem ser facultativamente e preferencialmente adicionados ao diluente. Um agente de isotonicidade, tal como glicerina, é vulgarmente usado em concentrações conhecidas. Um tampão fisiologicamente tolerado é de preferência adicionado para proporcionar melhoria do controlo do pH. As formulações podem cobrir uma ampla gama de valores de pH, tal como desde cerca de pH 4 a cerca de pH 10, e gamas preferidas desde cerca de pH 5 a cerca de pH 9, e uma gama mais preferida de cerca de 6,0 a cerca de 8,0. Preferencialmente, as formulações da presente invenção têm

um pH entre cerca de 6,8 e cerca de 7,8. Os tampões preferidos incluem tampões de fosfato, mais preferencialmente fosfato de sódio, particularmente uma solução salina tamponada com fosfato (PBS).

Outros aditivos, tal como solubilizantes farmaceuticamente aceitáveis como Tween 20 (polioxietileno (20) sorbitano), Tween 40 (polioxietileno (20) sorbitano monopalmitato), Tween 80 (polioxietileno (20) sorbitano monooleato), Pluronic F68 (copolímeros de blocos de polioxietileno polioxipropileno), e PEG (polietileno glicol) ou agemtes tensioativos não iónicos, tais como polissorbato 20 ou 80 ou poloxero 184 ou 188, polióis Pluronic®, outros co-polímeros de bloco e quelantes, tais como EDTA e EGTA, podem ser opcionalmente adicionados às formulações ou composições para reduzir a agregação. Estes aditivos são particularmente úteis se uma bomba ou recipiente de plástico é utilizado para administrar a formulação. A presença de um agente tensiativo farmaceuticamente aceitável atenua a propensão da proteína para se agregar.

As formulações da presente invenção podem ser preparadas por um processo que compreende a mistura de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 e um conservante selecionado de entre o grupo consistindo em fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, álcool benzílico, alquilparabeno, (metilo, etilo, propilo, butilo e semelhantes), cloreto de benzalcónio, cloreto de benzetónio, dehidroacetato de sódio e timerosal ou as suas misturas num diluente aquoso. A mistura de, pelo menos, um anticorpo anti-IL-23p19 e um conservante num diluente aquoso é levada a cabo utilizando procedimentos de dissolução e mistura convencionais. Para preparar uma formulação adequada, por exemplo, uma

quantidade medida de, pelo menos, um anticorpo anti-IL-23p19 em solução tamponada a ser combinada com o conservante desejado numa solução tamponada em quantidades suficientes para proporcionar a proteína e conservante, nas concentrações desejadas. Variações deste processo serão reconhecidas por um perito na técnica. Por exemplo, a ordem em que os componentes são adicionados, se são utilizados aditivos adicionais, a temperatura e pH a que a formulação é preparada, são todos factores que podem ser optimizados para a concentração e meios de administração usados.

As formulações reivindicadas podem ser fornecidas aos pacientes como soluções límpidas ou como dois frascos compreendendo um frasco de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 liofilizado que é reconstituído com um segundo frasco que contém água, um conservante e/ou excipiente, de preferência, um tampão fosfato e/ou salino e um sal escolhido, num diluente aquoso. Tanto um frasco de solução única ou dois frascos requerendo reconstituição podem ser reutilizados múltiplas vezes e podem ser suficientes para um único ou múltiplos ciclos de tratamento do paciente e, portanto, podem proporcionar um regime de tratamento mais conveniente do que o atualmente disponível.

Os presentes artigos manufacturados reivindicados são úteis para a administração ao longo de um período que varia de imediatamente a vinte e quatro horas ou mais. Por conseguinte, os artigos manufacturados presentemente reivindicados oferecem vantagens significativas para o paciente. As formulações da invenção podem, opcionalmente, ser armazenadas com segurança a temperaturas desde cerca de 2°C até cerca de 40°C e retêm a atividade biológica da

proteína por períodos prolongados de tempo, permitindo, assim, um rótulo de embalagem indicando que a solução pode ser mantida e/ou utilizada ao longo de um período de 6, 12, 18, 24, 36, 48, 72 ou 96 horas ou mais. Se for usado diluente para preservar, tal rótulo pode incluir uso até 1-12 meses, meio, um ano e meio e/ou dois anos.

As soluções de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 da invenção podem ser preparadas por um processo que compreende a mistura de, pelo menos, um anticorpo num diluente aquoso. A mistura é levada a cabo utilizando procedimentos de dissolução e mistura convencionais. Para preparar um diluente adequado, por exemplo, uma quantidade medida de, pelo menos, um anticorpo em água ou tampão, é combinada em quantidades suficientes para proporcionar a proteína e, opcionalmente, um conservante ou tampão nas concentrações desejadas. Variações deste processo serão reconhecidas por um perito na técnica. Por exemplo, a ordem em que os componentes são adicionados, se são utilizados aditivos adicionais, a temperatura e pH a que a formulação é preparada, são todos factores que podem ser optimizados para a concentração e meios de administração usados.

Os produtos reivindicados podem ser fornecidos aos pacientes como soluções límpidas ou como dois frascos compreendendo um frasco de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 liofilizado que é reconstituído com um segundo frasco contendo o diluente aquoso. Tanto um frasco de solução única ou dois frascos requerendo reconstituição podem ser reutilizados múltiplas vezes e podem ser suficientes para um único ou múltiplos ciclos de tratamento do paciente e,

assim, proporcionar um regime de tratamento mais conveniente do que o atualmente disponível.

Os produtos reivindicados podem ser fornecidos indiretamente aos pacientes por fornecimento a farmácias, clínicas, ou outras instituições e entidades, soluções límpidas ou frascos duplos compreendendo um frasco de de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 liofilizado que é reconstituído com um segundo frasco que contém o diluente aquoso. A solução transparente, neste caso, pode ser até um litro ou mesmo maior em tamanho, proporcionando um grande reservatório do qual pequenas porções da solução de pelo menos um anticorpo pode ser recuperada uma ou múltiplas vezes para transferir para frascos mais pequenos e fornecida pela farmácia ou clínica para os seus clientes e/ou pacientes.

Dispositivos reconhecidos compreendendo sistemas de frasco único incluem dispositivos de caneta-injetora para a entrega de uma solução, como canetas BD, BD Autojector®, HumaJect®, NovoPen®, caneta B-D®, Autopen® e Optipen®, GenotropinPen®, Genotronorm Pen®, Humatro Pen®, Reco-Pen®, Pen Roferon®, Biojector®, Iject®, J-tip Needle-Free Injector®, Intraject®, Medi-Ject®, por exemplo, como feito ou desenvolvido por Becton Dickensen (Franklin Lakes, NJ, www.bectondickenson.com), Disetronic (Burgdorf, Suíça, www.disetronic.com; Bioject, Portland, Oregon (www.bioject.com); National Medical Products, Weston Medical (Peterborough, Reino Unido, www.weston-medical. com), Medi-Ject Corp (Minneapolis, MN, www. mediject.com) e dispositivos adequados similares. Dispositivos reconhecidos compreendendo um sistema de frasco duplo incluem os sistemas de caneta-injetora para reconstituir um

medicamento liofilizado num cartucho para a entrega da solução reconstituída, tais como o HumatroPen®. Exemplos de outros dispositivos adequados refere-se seringas pré-cheias, auto-injectores, injectores livres de agulha e conjuntos de infusão IV livres de agulha.

Os produtos presentemente reivindicados incluem material de embalagem. O material de embalagem proporciona, para além da informação requerida pelas agências reguladoras, as condições sob as quais o produto pode ser utilizado. O material de embalagem da presente invenção fornece instruções ao paciente para reconstituir, pelo menos, um anticorpo anti-IL-23p19 no diluente aquoso para formar uma solução e para usar a solução num período de 2-24 horas ou superior para os dois frascos de produto húmido/seco. Para um único frasco, de solução do produto, o rótulo indica que tal solução pode ser usada por um período de 2-24 horas ou mais. Os produtos atualmente reivindicados são úteis para o uso humano do produto farmacêutico.

As formulações da presente invenção podem ser preparadas por um processo que compreende a mistura de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 e um tampão selecionado, de preferência, um tampão contendo fosfato contendo uma solução salina ou um sal escolhido. A mistura de, pelo menos, um anticorpo anti-IL-23p19 e o tampão num diluente aquoso é levada a cabo utilizando procedimentos de dissolução e mistura convencionais. Para preparar uma formulação adequada, por exemplo, uma quantidade medida de, pelo menos, um anticorpo em água ou tampão é combinada com o agente de tamponamento desejado em água em quantidades suficientes para proporcionar a proteína e tampão nas concentrações desejadas. Variações deste processo serão

reconhecidas por um perito na técnica. Por exemplo, a ordem em que os componentes são adicionados, se são utilizados aditivos adicionais, a temperatura e pH a que a formulação é preparada, são todos factores que podem ser optimizados para a concentração e meios de administração usados.

As formulações estáveis ou conservadas reivindicadas podem ser fornecidas aos pacientes como soluções límpidas ou como dois frascos compreendendo um frasco de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 liofilizado que é reconstituído com um segundo frasco que contém um conservante ou tampão e excipientes num diluente aquoso. Tanto um frasco de solução única ou um frasco duplo requerendo reconstituição podem ser reutilizados múltiplas vezes e podem ser suficientes para um único ou múltiplos ciclos de tratamento do paciente e, assim, proporcionar um regime de tratamento mais conveniente do que o atualmente disponível.

Outras formulações e métodos de estabilizar o anticorpo anti-IL-23p19 podem resultar numa solução límpida de pó liofilizado compreendendo o anticorpo. Entre as soluções não-límpidas estão as formulações que compreendem as suspensões de partículas, sendo as referidas partículas uma composição que contenha o anticorpo anti-IL-23p19 numa estrutura de dimensão variável e conhecida também como microesferas, micropartículas, nanopartículas, nanoesferas, ou lipossomas. Tais formulações em partículas, essencialmente esféricas e relativamente homogéneas contendo um agente ativo podem ser formadas por contacto de uma fase aquosa contendo o agente ativo e um polímero e uma fase não aquosa, seguido por evaporação da fase não aquosa para causar a coalescência das partículas a partir da fase aquosa como ensinado na US 4589330. Micropartículas

porosas podem ser preparados utilizando uma primeira fase, contendo um agente ativo e um polímero disperso num solvente contínuo e remoção do referido solvente da suspensão, por liofilização ou secagem por diluição por extração de precipitação tal como descrito na US 4818542. Os polímeros preferidos para tais preparações são copolímeros naturais ou sintéticos ou polímeros selecionados de entre o grupo que consiste em gelatina de ágar, amido, arabinogalactano, albumina, colagénio, ácido poliglicólico, ácido poliláctico, glicolido-L (-) lactato poli (epsilon-caprolactona, poli(ácido epsilon-caprolactona-CO-láctico), poli (ácido epsilon-caprolactona-co-glicólico), poli(ácido ß-hidroxi butírico), óxido de polietileno, polietileno, poli(alquil-2-cianoacrilato), poli (metacrilato de hidroxietilo), poliamidas, poli (aminoácidos), poli (2-hidroxietil DL-aspartamida), poli (éster de ureia), poli(glicol de L-fenilalanina/etileno/1,6-diisocianatohexano) e poli (metacrilato de metilo). Polímeros particularmente preferidos são poliésteres, tais como o ácido poliglicólico, ácido poliláctico, glicolido-L (-) lactato poli (epsilon-caprolactona, poli(e-caprolactona-CO-ácido láctico), e poli(ácido epsilon-caprolactona-co-glicólico. Os solventes úteis para dissolver o polímero e/ou a substância ativa incluem: água, hexafluoroisopropanol, cloreto de metileno, tetra-hidrofurano, hexano, benzeno ou sesquihidrato de hexafluoroacetona. O processo de dispersão da fase ativa com uma segunda fase pode incluir pressão forçando a referida primeira fase através de um orifício de um tubo para afectar a formação de gotículas.

As formulações de pó seco podem resultar de outros processos de liofilização, por exemplo por secagem por

pulverização ou extração oe solvente por evaporação ou por precipitação de uma composição cristalina seguido por um ou mais passos para remover o solvente aquoso ou não aquoso. A preparação de uma preparação de anticorpo seca por pulverização é ensinado na US 6019968. As composições de pó seco à base de anticorpo podem ser produzidas por pulverização de soluções secas ou suspensões do anticorpo e, opcionalmente, excipientes, num solvente em condições de fornecer um pó seco que pode ser inalado. Os solventes podem incluir compostos polares, tais como água e etanol, que podem ser facilmente secos. A estabilidade do anticorpo pode ser aumentada através da realização de procedimentos de pulverização, na ausência de oxigénio, tal como sob uma camada de azoto ou usando azoto como gás de secagem. Outra formulação relativamente seca é uma dispersão de uma pluralidade de microestruturas perfuradas dispersas num meio de suspensão que compreende, tipicamente, um propulsor de hidrofluoroalcano, como ensinado na WO 9916419. As dispersões estabilizadas podem ser administradas ao pulmão de um paciente, utilizando um inalador de dose mensurável. Equipamentos úteis para o fabrico comercial de medicamentos secos pulverizados são fabricados por Buchi Ltd ou Niro Corp.

Pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 em qualquer das formulações ou soluções estáveis ou conservadas aqui descritas, pode ser administrado a um paciente de acordo com a presente invenção através de uma variedade de métodos de distribuição incluindo injeção SC ou IM; implante transdérmico, pulmonar, transmucoso, bomba osmótica, cartucho, microbomba, ou outros meios apreciados pelo perito na técnica, como bem conhecidos na arte.

Aplicações Terapêuticas

É aqui revelado um método para modular ou tratar pelo menos uma doença relacionada com a IL-23, numa célula, tecido, órgão, animal ou doente, como conhecido na técnica ou como aqui descrito, utilizando pelo menos um anticorpo IL-23p19 da presente invenção, por exemplo, administrando ou contactando a célula, tecido, órgão, animal ou doente com uma quantidade terapêutica eficaz de anticorpo IL-23p19. Também é revelado um método para, para modular ou tratar pelo menos uma doença relacionada com a IL-23, numa célula, tecido, órgão, animal ou doente, incluindo, mas não limitado a, a obesidade, uma doença imunológica relacionada, uma doença cardiovascular, uma doença infecciosa, uma doença maligna ou uma doença neurológica.

Também aqui é revelado um método para modular ou tratar pelo menos uma doença imunológica com a IL-23, numa célula, tecido, órgão, animal ou doente, incluindo, mas não limitado a, artrite reumatóide, artrite reumatóide juvenil, surto de artrite reumatóide juvenil sistémica, artrite psoriática, espondilite anquilosante, úlcera gástrica, artropatias soronegativas, osteoartrite, osteólise, soltura asséptica de implantes ortopédicos, doença inflamatória intestinal, colite ulcerativa, lúpus eritematoso sistémico, síndrome antifosfolípide, iridociclite/uveíte/neurite óptica, fibrose pulmonar idiopática, vasculite sistémica/ granulomatose de Wegener, sarcoidose, procedimentos de reversão de orquite/vasectomia, doenças alérgicas/ atópicas, asma, rinite alérgica, eczema, dermatite de contacto alérgica, conjuntivite alérgica, pneumonite de hipersensibilidade, transplantes, rejeição de transplantes de órgãos, doença do enxerto hospedeiro, síndrome da resposta inflamatória sistémica, síndrome de sépsis, sépsis

gram positiva, sépsis gram negativa, sépsis de cultura negativa, sépsis fúngica, neutropenia febril, urosépsis, meningococcemia, trauma/hemorragia, queimaduras, exposição à radiação ionizante, pancreatite aguda, síndrome da angústia respiratória do adulto, artrite reumatóide, hepatite induzida pelo álcool, patologias inflamatórias crónicas, sarcoidose, patologia de Crohn, anemia falciforme, diabetes, nefrose, doenças atópicas, reações de hipersensibilidade, rinite alérgica, febre dos fenos, rinite perene, conjuntivite, endometriose, asma, urticária, anafilia sistémica, dermatite, anemia perniciosa, doença hemolítica, trombocitopenia, rejeição de enxerto de um órgão ou tecido, rejeição de transplante de rim, rejeição de transplante de coração, rejeição de transplantes do fígado, rejeição de transplante do pâncreas, rejeição de transplantes do pulmão, rejeição de transplantes de medula óssea (TMO),rejeição do enxerto da pele, rejeição de transplante de cartilagem, rejeição de enxerto de osso, rejeição de transplantes do intestino delgado, rejeição de implante do timo fetal, rejeição de transplante da paratireóide, rejeição de xenoenxerto de qualquer órgão ou tecido, rejeição do enxerto, reações de hipersensibilidade anti-recetor, doença de Graves, doença de Raynaud, diabetes tipo B resistentes à insulina, asma, miastenia gravis, citotoxicidade mediada por anticorpo, reações de hipersensibilidade do tipo III, síndrome POEMS (polineuropatia, organomegalia, endocrinopatia, gamopatia monoclonal, síndrome de alterações da pele), polineuropatia, organomegalia, endocrinopatia, gamopatia monoclonal, síndrome de alterações da pele, síndrome antifosfolípide, pênfigo, esclerodermia, doença do tecido conjuntivo misturado, doença idiopática de Addison, diabetes mellitus, hepatite crónica ativa, cirrose biliar primária, vitiligo, vasculite, síndrome de cardiotomia pós-

MI, hipersensibilidade de tipo IV, dermatite de contato, pneumonite por hipersensibilidade, rejeição do enxerto, granulomas devido a organismos intracelulares, sensibilidade a medicamentos, metabólica/idiopática, doença de Wilson, hemacromatóse, deficiência de alfa-1-antitripsina, retinopatia diabética, tiroidite de Hashimoto, osteoporose, avaliação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, cirrose biliar primária, tiroidite, encefalomielite, caquexia, fibrose cística, doença crónica pulmonar neonatal, doença pulmonar obstrutiva crónica (COPD), linfo-hematofagocítica familiar, condições dermatológicas, psoríase, alopécia, síndroma nefrótico, nefrite, nefrite glomerular, insuficiência renal aguda, hemodiálise, uremia, toxicidade, pré-eclâmpsia, terapia OKT3, terapia anti-cd3, terapia de citocina, quimioterapia, terapia de radiação (por exemplo, incluindo, mas não limitado a, astenia, anemia, caquexia, e semelhantes), intoxicação crónica por salicilato, e afins. Ver, por exemplo, o Merck, Manual, Edição 12-17, Merck & Company, Rahway, NJ (1972, 1977, 1982, 1987, 1992, 1999) Pharmacotherapy Handbook, Wells et al. eds., 2ª Edição, Appleton e Lange, Stamford, Conn (1998, 2000).

Aqui também é revelado um método para modular ou tratar psoríase, artrite psoriática, doença de Crohn, esclerose múltipla, e neurite óptica, entre as outras doenças referidas acima, como relacionadas com a IL-23, numa célula, tecido, órgão, animal ou doente, incluindo, mas não se limitando a, pelo menos uma das doenças imunológicas relacionadas, doença cardiovascular, infecciosa, maligna e/ou neurológica. Tal método pode compreender, opcionalmente, a administração de uma quantidade eficaz de, pelo menos, uma composição ou composição farmacêutica compreendendo

pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 a uma célula, tecido, órgão, animal ou doente em necessidade de tal modulação, tratamento ou terapia.

Qualquer método da presente divulgação pode compreender a administração de uma quantidade eficaz de uma composição ou formulação farmacêutica compreendendo pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 a uma célula, tecido, órgão, animal ou doente em necessidade de tal modulação, tratamento ou terapia. Tal método pode compreender ainda, opcionalmente, a co-administração ou terapia de combinação para o tratamento de tais doenças ou distúrbios, em que a administração do referido pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19, porção especificada ou variante do mesmo, compreende ainda a administração de, concorrentemente antes e/ou depois de, pelo menos, um selecionado de, pelo menos, um antagonista do TNF (por exemplo, mas não limitado a, uma substância química de TNF ou proteína antagonista, anticorpo monoclonal ou policlonal TNF ou seu fragmento, um receptor de TNF solúvel (por exemplo, p55, p70 ou p85) ou fragmento, polipeptídeos de fusão dos mesmos, ou uma pequena molécula antagonista de TNF, por exemplo, proteína de ligação TNF I e II (TBP-I e TBP-II), nerelimonmab, infliximab, etanercept (Enbrel™), adalimulab (Humira™), CDP-571, CDP-870, afelimomab, lenercept, e semelhantes), um anti-reumático (por exemplo, metotrexato, auranofina, aurotioglucose, azatioprina, tiomalato de ouro de sódio, sulfato de hidroxicloroquina, leflunomida, sulfasalzine), um relaxante muscular, um narcótico, um fármaco anti-inflamatório não esteróide (AINE), um analgésico, um anestésico, um sedativo, um anestésico local, um bloqueador neuromuscular, um antimicrobiano (por exemplo, aminoglicósidos, um antifúngico, um antiparasitário, um

antiviral, um carbapenem, cefalosporina, uma flurorquinolone, um macrolido, uma penicilina, uma sulfonamida, uma tetraciclina, outro antimicrobiano), um antipsoriático, um corticosteróide, um esteróide anabólico, um agente relacionado com a diabetes, um agente mineral, nutricional, da tiróide, uma vitamina, uma hormona relacionada com o cálcio, um antidiarreico, um antitússico, um antiemético, um anti-úlcera, um laxante, um anticoagulante, uma eritropoietina (por exemplo, a epoetina alfa), um filgrastim (por exemplo, G-CSF, Neupogen), um sargramostim (GM-CSF, Leukine), uma imunização, uma imunoglobulina, um imunossupressor (por exemplo, basiliximab, ciclosporina, daclizumab), uma hormona de crescimento, um fármaco de substituição hormonal, um modulador de receptor de estrogénio, um midriático, um cicloplégico, um agente alquilante, um antimetabolito, um inibidor mitótico, um radiofármaco, uma antidepressivo, um agente antimaníaco, um antipsicótico, um ansiolítico, um hipnótico, um simpatomimético, um estimulante, donepezil, tacrina, medicamento para a asma, um agonista beta, um esteróide inalado, um inibidor de leucotrienos, uma metilxantina, uma cromolina, uma epinefrina ou analógo, dornase-alfa (Pulmozyme), uma citocina ou um antagonista da citocina. As dosagens adequadas são bem conhecidas na técnica. Ver, por exemplo, Wells et al. Eds., Pharmacotherapy Handbook, 2nd Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); PDR Pharmacopeia, Tarascon Pocket Pharmacopeia 2000 Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000); Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21ª edição, Springhouse Corp, Springhouse, PA, 2001; Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ.

Os antagonistas de TNF adequados para as composições, a combinação da terapia, a co-administração, dispositivos e/ou dos métodos da presente invenção (que compreende ainda, pelo menos, um anticorpo, uma porção especificada e sua variante, da presente invenção), incluem, mas não estão limitados a, anticorpos anti-TNF (por exemplo, pelo menos um antagonista de TNF, tal como definido acima), os fragmentos de ligação ao antigénio dos mesmos, com as moléculas receptoras que se ligam especificamente ao TNF; compostos que previnem e/ou inibem a síntese do TNF, a libertação de TNF ou a sua ação sobre células-alvo, tais como talidomida, tenidap, inibidores da fosfodiesterase (por exemplo, pentoxifilina e rolipram), agonistas do receptor da adenosina A2b e potenciadores do receptor da adenosina A2b; compostos que previnem e/ou inibem a sinalização do receptor do TNF, tais como inibidores de quinase por proteína ativada por mitógeno (MAP); compostos que bloqueiam e/ou inibem a clivagem da membrana de TNF, tal como inibidores de metaloproteinase; compostos que bloqueiam e/ou inibem a atividade do TNF, tais como inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA) (por exemplo, captopril); e compostos que bloqueiam e/ou inibem a produção de TNF e/ou a síntese, tais como inibidores da quinase MAP.

Tal como aqui utilizado, um "anticorpo de factor de necrose tumoral", "TNF", "anticorpo de TNFα", ou fragmento e semelhantes diminui, bloqueia, inibe, anula ou interfere com a atividade do TNF□ *in vitro, in situ* e/ou, de preferência, *in vivo*.

Por exemplo, um anticorpo humano de TNF adequado da presente invenção pode ligar o TNFα e inclui anticorpos anti-TNF, os fragmentos de ligação ao antigénio dos mesmos,

e os mutantes especificados ou domínios dos mesmos que se ligam especificamente ao TNF□. Um adequado anticorpo ou fragmento de TNF também pode diminuir, bloquear, anular, interferir, prevenir e/ou inibir o TNF RNA, ADN ou a síntese proteica, a libertação de TNF, receptor de TNF de sinalização, a clivagem da membrana de TNF, a atividade de TNF, a produção de TNF e/ou síntese.

Um exemplo de um anticorpo ou um antagonista de TNF é o anticorpo quimérico cA2. Exemplos adicionais de anticorpos monoclonais anti-TNF que podem ser utilizados na presente invenção estão descritos na técnica (ver, por exemplo, Patente US 5231024; Möller, A. et al., Cytokine 2(3):162-169 (1990); Pedido US 07/943, 852 (apresentado em 11 de setembro de 1992); Rathjen et al., Publicação Internacional WO 91/02078 (publicada em 21 de fevereiro de 1991); Rubin et al., Publicação de Patente EP 0 218 868 (publicada em 22 de abril de 1987); Yone et al., Publicação de Patente EP 0 288 088 (26 de outubro de 1988); Liang, et ai. Biochem. Biophvs. Res. Comm. 137:847-854 (1986); Meager, et al., Hybridoma 6:305-311 (1987); Fendly et al., Hybridoma 6:359-369 (1987); Bringman, et al., Hybridoma 6:489-507 (1987); e Hirai, et al. J. Immunol. Meth. 96:57-62 (1987).

Moléculas receptoras do TNF

Moléculas receptoras do TNF preferidas úteis na presente invenção são aquelas que ligam TNFα com afinidade elevada (ver, por exemplo, Feldmann et al., Publicação Internacional WO 92/07076 (publicada em 30 de abril de 1992); Schall et al., Cell 61:361-370 (1990); e Loetscher et al., Cell 61:351-359 (1990), cujas referências são aqui inteiramente incorporadas por referência) e, opcionalmente,

possuem baixa imunogenicidade. Em particular, os os receptores da superfície celular do TNF 55 kDa (p55 TNF-R), e 75 kDa (p75 TNF-R), são úteis na presente invenção. Formas truncadas destes receptores, compreendendo os domínios extracelulares (ECD) dos receptores ou respectivas porções funcionais (ver, por exemplo, Corcoran et al., Eur. J. Biochem. 223:831-840 (1994)), também são úteis na presente invenção. As formas truncadas dos receptores de TNF, compreendendo o ECD, foram detectadas na urina e no soro como proteínas de ligação inibidoras 30 kDa e 40 kDa de TNFα (Engelmann, H. et al. J. Biol. Chem. 265:1531-1536 (1990)). Moléculas multiméricas receptoras do TNF e moléculas de fusão imunorreceptoras do TNF, e seus derivados e fragmentos ou porções dos mesmos, são exemplos adicionais de moléculas receptoras do TNF que são úteis nos métodos e nas composições da presente invenção.

Moléculas multiméricas receptoras de TNF úteis na presente invenção compreendem a totalidade ou uma porção funcional do ECD de dois ou mais receptores do TNF ligados via um ou mais polipeptídeo glicol (PEG). Um exemplo de uma tal molécula de fusão imunorreceptora do TNF é TNF/IgG da proteína de fusão. As moléculas de fusão imunorreceptoras do TNF e métodos para a sua produção foram descritos na técnica (Lesslauer et al., Eur. J. Immunol. 22:2883-2886 (1991); Ashkenazi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10535-10539 (1991); Peppel et al., J. Exp. Med. Chem. 274:1483-1489 (1991); Kolls et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:215-219 (1994); Butler et al., Cytokine 6 {6):616-623 (1994); Baker et al., Eur. J. Immunol. 24:2040-2048 (1994); Beutler et al., Patente US 5447851; e Pedido US 08/442, 133 (apresentada em 16 de maio de 1995). Métodos para produzir moléculas de fusão imunorreceptoras

também podem ser encontrados em Capon et al., Patente US 5116964; Capon et al., Patente US 5225538; e Capon et al., Nature 337:525-531 (1989).

As citocinas incluem qualquer citocina conhecida. Ver, por exemplo, CopewithCytokines.com. Antagonistas de citocinas incluem, mas não estão limitados a, qualquer combinação de anticorpo, fragmento ou mimético, qualquer receptor solúvel, fragmento ou mimético, qualquer pequena molécula antagonista, ou qualquer destes.

Tratamentos terapêuticos

Qualquer método da presente divulgação pode compreender um método para o tratamento de uma desordem mediada por IL-23, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de uma composição ou formulação farmacêutica compreendendo pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 a uma célula, tecido, órgão ou animal paciente com necessidade de tal modulação, tratamento ou terapia. Tal método pode compreender ainda, opcionalmente, a co-administração ou a terapia de combinação para o tratamento de tais doenças ou distúrbios, em que a administração do referido pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19, a porção especificada ou variante do mesmo, compreende ainda a administração antes de, em simultâneo, e/ou depois de, pelo menos, um selecionado de um medicamento anti-infeccioso, um medicamento do grupo do sistema cardiovascular (CV), um medicamento do sistema nervoso central (SNC), um medicamento do sistema nervoso autónomo (ANS), um medicamento do trato respiratório, um medicamento do trato a gastrintestinal (GI), um fármaco hormonal, um fármaco para o fluido ou o equilíbrio electrolítico, um medicamento hematológico, um antineoplásico, um medicamento de imuno-modulação, um

medicamento oftálmico, ótico ou nasal, um medicamento tópico, um medicamento nutricional ou semelhante, pelo menos, um antagonista do TNF (por exemplo, mas não limitado a um anticorpo ou fragmento de TNF, um receptor solúvel de TNF ou fragmento, suas proteínas de fusão ou uma pequena molécula antagonista de TNF), um anti-reumático (por exemplo, metotrexato, auranofina, aurotioglucose, azatioprina, etanercept, tiomalato de ouro de sódio, sulfato de hidroxicloroquina, leflunomida, sulfasalzine), um relaxante muscular, um narcótico, um medicamento anti-inflamatório não-esteróide (AINE), um analgésico, um anestésico, um sedativo, um anestésico local, um bloqueador neuromuscular, um antimicrobiano (por exemplo, aminoglicósido, um antifúngico, um antiparasitário, um antiviral, um carbapenem, cefalosporina, uma flurorquinolone, um macrolido, uma penicilina, uma sulfonamida, uma tetraciclina, outro antimicrobiano), um antipsoriático, um corticosteróide, um esteróide, um agente relacionado com a diabetes, um agente mineral, nutricional, da tiróide, uma vitamina, uma hormona relacionada com o cálcio, um antidiarreico, um antitússico, um antiemético, um anti-úlcera, um laxante, um anticoagulante, uma eritropoietina (por exemplo, a epoetina alfa), um filgrastim (por exemplo, O G-CSF, Neupogen), um sargramostim (GM-CSF, Leukine), uma imunização, uma imunoglobulina, um imunossupressor (por exemplo, basiliximab, ciclosporina, daclizumab), uma hormona de crescimento, um medicamento de substituição hormonal, um modulador de receptor de estrogénio, um midriático, um cicloplégico, um agente alquilante, um antimetabolito, um inibidor mitótico, um radiofármaco, um agente antimaníaco, antidepressivo, um antipsicótico, um ansiolítico, um hipnótico, um simpatomimético, um estimulante, donepezil, tacrina, medicamento para a asma, um beta agonista, um

esteróide inalado, um inibidor de leucotrienos, uma metilxantina, uma cromolina, uma epinefrina ou analógo, dornase-alfa (Pulmozyme), uma citocina ou um antagonista da citocina. Tais fármacos são bem conhecidos na técnica, incluindo as formulações, as indicações, a dosagem e administração para cada um aqui apresentada (veja, por exemplo, Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21ª edição, Springhouse Corp, Springhouse, PA, 2001; Health Professional's Drugs Guide 2001, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ; Pharmcotherapy Handbook, Wells et al., Ed., Appleton & Lange, Stamford, CT).

Tipicamente, o tratamento de condições patológicas é efectuada por administração de uma quantidade eficaz ou dosagem de, pelo menos, uma composição de anticorpo anti-IL-23p19 que totaliza, em média, uma gama de, pelo menos, cerca de 0,01 a 500 miligramas de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 por quilograma de paciente por dose, ou, de preferência, a partir de, pelo menos, cerca de 0,1 a 100 miligramas de anticorpo/quilograma de doente por administração única ou múltipla, dependendo da atividade específica do agente ativo contido na composição. Alternativamente, a concentração de soro eficaz pode compreender de 0,1-5000 µg/ml de concentração no soro por administração única ou múltipla. As dosagens adequadas são do conhecimento dos médicos e vão, naturalmente, depender do estado de doença em particular, atividade específica da composição a ser administrada, e do doente particular submetido a tratamento. Em alguns casos, para atingir o valor terapêutico desejado, pode ser necessário prever a administração repetida, isto é, administrações individuais repetidas de uma dose controlada ou doseada em particular,

em que as administrações individuais são repetidas até que a dose diária ou o efeito desejado seja alcançado.

As doses preferidas podem incluir, opcionalmente, a administração de cerca de 0,1-99 e/ou 100-500 mg/kg, ou qualquer gama, valor ou sua fracção, ou para atingir uma concentração sérica de cerca de 0,1-5000 µg/ml de concentração no soro por administração simples ou múltipla, ou qualquer faixa, valor ou fração do mesmo. Uma gama de dosagem preferida para o anticorpo anti-IL-23p19 da presente invenção é de cerca de 1 mg/kg, até cerca de 3, ou cerca de 6 a cerca de 12 mg/kg de peso corporal do paciente.

Alternativamente, a dosagem administrada pode variar dependendo de factores conhecidos, tais como as características farmacodinâmicas do agente em particular e do seu modo e via de administração, a idade, saúde e peso do receptor, a natureza e extensão dos sintomas, tipo de tratamento concorrente, frequência do tratamento e efeito desejado. Normalmente, uma dosagem de ingrediente ativo pode ser de cerca de 0,1 a 100 miligramas por quilograma de peso corporal. Habitualmente 0,1 a 50 e, de preferência, 0,1 a 10 miligramas por quilograma por administração ou em forma de libertação sustentada é eficaz para obter os resultados desejados.

Como um exemplo não limitante, o tratamento de seres humanos ou animais pode ser proporcionado com dosagem única ou dosagem periódica de pelo menos um anticorpo da presente invenção, cerca de 0,1 a 100 mg/kg, ou qualquer, valor de intervalo ou fracção por dia, em, pelo menos, um dos dias

1-40, ou, alternativamente ou adicionalmente, pelo menos uma das semanas 1-52, ou, alternativamente ou adicionalmente, pelo menos um dos 1-20 anos, ou qualquer combinação destes, utilizando-se dose única, de infusão ou doses repetidas.

As formas de dosagem (composição) adequadas para administração interna contêm, geralmente, desde cerca de 0,001 miligramas a cerca de 500 miligramas de ingrediente ativo por unidade ou recipiente. Nestas composições farmacêuticas o ingrediente ativo estará normalmente presente numa quantidade de cerca de 0,5-99,999% em peso com base no peso total da composição.

Para administração parentérica, o anticorpo pode ser formulada como uma solução, suspensão, emulsão, partículas, pó ou pó liofilizado em associação, ou fornecido em separado, com um veículo parenteral farmaceuticamente aceitável. Exemplos de tais veículos são água, solução salina, solução de Ringer, solução de dextrose e cerca de 1-10% de soro de albumina humana. Os lipossomas e veículos não aquosos, tais como óleos fixos, também podem ser usados. O veículo ou pó liofilizado pode conter aditivos que mantêm a isotonicidade (por exemplo, cloreto de sódio, manitol) e estabilidade química (por exemplo, tampões e conservantes). A formulação é esterilizada por técnicas conhecidas ou adequadas.

Os veículos farmacêuticos adequados são descritos na edição mais recente de Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol, um texto de referência padrão neste campo.

Administração Alternativa

Muitos modos conhecidos e desenvolvidos podem ser utilizados de acordo com a presente invenção para a administração de quantidades farmaceuticamente eficazes de, pelo menos, um anticorpo anti-IL-23p19 de acordo com a presente invenção. Enquanto a administração pulmonar é usada na descrição seguinte, outros modos de administração podem ser usados de acordo com a presente invenção, com resultados adequados. Os anticorpos IL-23p19 do presente invenção podem ser entregues num transportador, tal como uma solução, emulsão, colóide ou suspensão, ou como um pó seco, utilizando-se qualquer um de uma variedade de dispositivos e métodos adequados para a administração por inalação ou por outros modos descrito aqui dentro ou conhecidos na técnica.

Formulações parenterais e administração

As formulações para administração parentérica podem conter como excipientes comuns água estéril ou solução salina, polialquilenoglicóis, tais como polietilenoglicol, óleos de origem vegetal, naftalenos hidrogenados e semelhantes. As suspensões aquosas ou oleosas para injeção podem ser preparadas usando um emulsionante ou humidificador adequado e um agente de suspensão, de acordo com métodos conhecidos. Os agentes para a injeção podem ser, um agente de diluição não-tóxico, não oralmente administrável, tal como uma solução aquosa, uma solução ou suspensão injetável estéril num solvente. Como veículo ou solvente utilizável pode ser usada, água, solução de Ringer, solução salina isotónica, etc.; como um solvente comum ou suspensão pode ser usado um óleo não volátil estéril. Para estes fins, qualquer tipo de óleo não volátil e ácido gordo pode ser usado, incluindo os óleos gordos naturais ou sintéticos ou semi-sintéticos ou ácidos gordos; mono ou di-triglicéridos naturais ou

sintéticos ou semi-sintéticos. A administração parental é conhecida na técnica e inclui, mas não está limitada a, meios convencionais de injeções, dispositivo de injeção sem agulha de gás pressurizado tal como descrito na Patente US 5851198, e um dispositivo perfurador a laser como descrito na Patente US 5839446.

Entrega Alternativa

A descrição refere-se ainda a administração de, pelo menos, um anticorpo anti-IL-23p19 meios parentéricos, subcutâneos, intramusculares, intravenosos, intrarticulares, intrabronquiais, intra-abdominais, intracapsulares, intracartilaginosos, intracavitários, intraceliais, intracerebelares, intracerebroventriculares, intracólicos, intracervicais, intragátricos, intra-hepáticos, intramiocardiais, intraosteais, intrapélvicos, intrapericárdicos, intraperitoneais, intrapleurais, intraprostáticos, intrapulmonares, intra-rectais, intrarenais, intra-retinianos, intraespinais, intra-sinoviais, intratorácicos, intra-uterinos, intravesicais, intralesionais, bolus, vaginais, rectais, bucais, sublinguais, intranasais ou transdérmicos.

Pelo menos, uma composição de anticorpo anti-IL-23p19 pode ser preparada para utilização para administração parentérica (subcutânea, intramuscular ou intravenosa) ou qualquer outra administração particularmente na forma de soluções líquidas ou suspensões; para uso em administração vaginal ou rectal particularmente em formas semi-sólidas, tais como, mas não limitadas a, cremes e supositórios; para administração bucal ou sublingual, tal como, mas não limitado a, na forma de comprimidos ou cápsulas; ou por via intranasal, tal como, mas não limitados a, a forma de pós ,

gotas nasais ou aerossóis, ou determinados agentes; ou transdermicamente, tais como, mas não se limitando a, gel, pomada, loção, suspensão ou sistema de entrega por adesivo com potenciadores de químicos, tais como dimetilsulfóxido ou para modificar a estrutura da pele ou para aumentar a concentração de fármaco no adesivo transdérmico (Junginger, et al. Em "Drug Permeation Enhancement;". Hsieh, DS, eds, pp 59-90 (Mareei Dekker, Inc. New York 1994), ou com agentes oxidantes que possibilitam a aplicação de formulações contendo proteínas e péptidos para a pele (WO 98/53847), ou aplicações de campos eléctricos para criar vias de transporte transientes, tais como electroporação, ou para aumentar a mobilidade dos fármacos carregados através da pele, tal como iontoforese, ou aplicação de ultra-som, tal como sonoforese (Patentes US 4309989 e 4767402).

Administração Pulmonar / Nasal

Para a administração pulmonar, preferivelmente, pelo menos, uma composição de anticorpo anti-IL-23p19 é entregue num tamanho de partícula eficaz para atingir as vias aéreas inferiores do pulmão ou seios nasais. De acordo com a invenção, pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 pode ser entregue por qualquer um de uma variedade de dispositivos de inalação ou nasais conhecidos na técnica para a administração de um agente terapêutico por inalação. Estes dispositivos capazes de depositar formulações de aerossol na cavidade do seio ou alvéolos de um paciente incluem inaladores de dose calibrados, nebulizadores, geradores de pó seco, pulverizadores, e similares. Outros dispositivos adequados para dirigir a administração pulmonar ou nasal de anticorpos são também conhecidos na técnica. Todos estes dispositivos podem utilizar formulações adequadas para a administração de um anticorpo num aerossol.

Tais aerossóis podem ser constituídos por soluções (tanto aquosas como não aquosas) ou por partículas sólidas.

O inalador, tipicamente usa um gás propulsor e requer a atuação durante a inspiração (Ver, por exemplo, WO 94/16970, WO 98/35888). Inaladores de pó seco, como Turbohaler™ (Astra), Rotahaler® (Glaxo), Diskus® (Glaxo), inalador Spires™ (Dura), os dispositivos comercializados pela Inhale Therapeutics, e o Spinhaler® inalador de pó (Fisons), usam a atuação/inspiração de um pó misto (US 4668218 Astra, EP 237507 Astra, WO 97/25086 Glaxo, WO 94/08552 Dura, US 5458135 Inhale, WO 94/06498 Fisons, aqui inteiramente incorporadas por referência). Nebulizadores como AERx™ Aradigm, o nebulizador Ultravent® (Mallinckrodt) e o nebulizador Acorn II® (Marquest Medical Products) (US 5404871 Aradigm, WO 97/22376), as referências anteriores aqui inteiramente incorporadas por referência, produzem aerossóis a partir de soluções, enquanto os inaladores de dose doseada e inaladores de pó seco produzem aerossóis de pequenas partículas.

Formulações transdérmicas e administração

Para administração transdérmica, pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 é encapsulado num dispositivo de entrega, tal como um lipossoma ou nanopartículas poliméricas, micropartículas, microcápsulas ou microesferas (referidas colectivamente como micropartículas, a menos que indicado o contrário). São conhecidos um certo número de dispositivos adequados, incluindo micropartículas feitas de polímeros sintéticos, tais como ácidos poli-hidroxi, tais como ácido poliláctico, ácido poliglicólico e copolímeros dos mesmos, poliortoésteres, polianidridos e polifosfazenos, e polímeros naturais, tais como colagénio, poliaminoácidos,

albumina e outras proteínas, alginato e outros polissacáridos, e suas combinações (Patente US 5814599).

Administração e formulações prolongadas

Pode ser desejável administrar os compostos do presente invento ao sujeito ao longo de períodos de tempo prolongados, por exemplo, por períodos de uma semana a um ano a partir de uma única administração. Podem ser utilizadas várias formas de libertação lenta, depósito ou dosagem de implantes. Por exemplo, uma forma de dosagem pode conter um sal farmaceuticamente aceitável e não tóxico dos compostos que possui um baixo grau de solubilidade nos fluidos corporais, por exemplo, (a) um sal de adição de ácido com um ácido polibásico tal como ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido tânico, ácido pamóico, ácido algínico, ácido poliglutâmico, ácidos naftaleno mono ou di-sulfónicos, ácido poligalacturónico, e similares; (b) um sal com um catião metálico polivalente, tal como o zinco, cálcio, bismuto, bário, magnésio, alumínio, cobre, cobalto, níquel, cádmio e semelhantes, ou com um catião orgânico formado a partir de, por exemplo, N, N'-dibenzil-etilenodiamina ou etilenodiamina; ou (c) combinações de (a) e (b), por exemplo, um sal de tanato de zinco. Além disso, os compostos da presente invenção ou, de preferência, um sal relativamente insolúvel, tal como os descritos acima, podem ser formulados num gel, por exemplo, um gel de monoestearato de alumínio com, por exemplo, óleo de sésamo, adequado para injeção. Os sais particularmente preferidos são os sais de zinco, sais de tanato de zinco, sais de pamoato, e similares. Outro tipo de formulação de depósito de libertação lenta para injeção conterá o composto ou sal disperso para o encapsulamento num polímero não antigénico, não-tóxico de degradação lenta, tal como um ácido

poliláctico/polímero de ácido poliglicólico por exemplo como descrito na Patente US 3773919. Os compostos ou, de preferência, sais relativamente insolúveis, tais como os descritos acima, podem também ser formulados em pílulas de matriz de colesterol silástico, particularmente para uso em animais. Formulações de depósito ou de implante de libertação lenta adicionais, por exemplo, de gás ou de lipossomas líquidos, são conhecidas na literatura (Patente US 5770222 e "Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems", J.R. Robinson ed., Marcel Dekker, Inc., NY, 1978).

Tendo descrito em geral a invenção, a mesma será mais prontamente compreendida por referência aos exemplos seguintes, que são fornecidos por meio de ilustração e não pretendem ser limitativos.

Exemplos

Exemplo 1 - Subunidade de especificidade dos anticorpos monoclonais IL-23p19

Foram avaliados IL-23 mAbs anti-humano purificado de ratinho, em ELISA de captura de citocinas para determinar a sua especificidade de subunidade de antigénio. Resumidamente, a IL-23 mAbs foram revestidas em placas e incubadas com 100 ng/ml (hr = humano recombinante) hrIL-23, hrIL-12, e hrp40, respectivamente. Após a incubação com anti-p40 biotinilado mAb, a ligação foi detectada utilizando HRP - estreptavidina conjugada. Um anticorpo anti-p40 mAb e um anti-IL-12 mAb (20C2, Catálogo No. 555065, BD Pharmingen, San Diego, CA), com especificidade conhecida foram utilizados como controlos.

A Figura 1 mostra que quatro mAbs se ligam especificamente a hrIL-23 e não a hrIL-12 ou ao monómero hrp40. Como a subunidade IL-23p19 deve associar-se covalentemente com p40 a ser segregado a partir de células de mamífero, a IL-23 mAbs que não reconhece o monómero p40 deve ligar quer a subunidade IL-23p19 isolada ou um epítopo comum do heterodímero p19-p40. Por conseguinte, estas IL-23 mAbs são referidas como IL-23p19 mAbs. Todos os quatro IL-23p19 mAbs anti-humanos demonstram curvas de ligação semelhantes a hrIL-23 (Figura 2) e subsequente a análise BIAcore demonstrou afinidades compreendidas de 43-338 pM. Foi ainda determinado que estas IL-23 mAbs não reagem de forma cruzada com a IL-23 murina (dados não mostrados).

Exemplo 2 - Inibição da IL-23 por ligação ao receptor de IL-23p19 mAbs

Para demonstrar que os IL-23p19 mAbs são anticorpos neutralizantes contra a subunidade p19, os mAb foram testados quanto à sua inibição de IL-23 e de ligação de IL-23R. Nesta experiência, a IL-23R foi imobilizada sobre uma placa. hrIL-23 biotinilado foi adicionado à placa, quer isoladamente ou depois de pré-incubação com os IL-23p19 mAbs individuais. Foi utilizado IL-23R solúvel (IL-23R-Fc) como um controlo positivo. IL-23 de ligação foi detectada com estreptavidina conjugada com HRP. Como mostrado na Figura 3, todos os quatro IL-23p19 mAbs foram capazes de prevenir a ligação IL-23/IL-23R com potência comparável à do Fc-IL-23 solúvel. Em contraste, quando a IL-12Rβ1 foi imobilizada sobre uma placa, nenhum dos IL-23p19 mAbs foram capazes de inibir a ligação IL-23/IL-12Rβ1 (dados não mostrados). Do mesmo modo, os IL-23p19 mAbs não bloqueiam a ligação IL-12/IL-12Rβ1 (dados não apresentados) A inibição seletiva da ligação de IL-23/IL-23R e a ausência de interferência com a IL-12 ou IL-23 para ligação a IL-12Rβ1

demonstra, ainda, que estes IL-23p19 mAbs não se ligam à subunidade p40 e, portanto, neutralizam os anticorpos IL-23p19 anti-humanos.

Exemplo 3 - Neutralização da função biológica de IL-23 por IL-23p19 mAbs

A IL-23 é capaz de induzir a fosforilação da STAT3 intracelular e a produção de IL-17 por células T. Por conseguinte, os IL-23p19 mAbs foram testados quanto à sua capacidade para inibir as funções biológicas de IL-23 humana.

Numa experiência, as células assassinas naturais (NKL) foram estimuladas com hrIL-23 quer isoladamente ou depois de pré-incubação com os IL-23p19 mAbs individuais. As células tratadas foram coradas com anticorpos anti-fosfo-STAT3 fluorocromo conjugados e analisadas por citometria de fluxo intracelular. Foi mostrado que todos os quatro IL-23p19 mAbs inibem a fosforilação da STAT3 com potência comparável a um neutralizante anti-p40 mAb.

Numa outra experiência, os esplenócitos murinos isolados de fresco foram tratados com hrIL-23 pré-incubados com IL-23p19 mAb titulado ou mAbs de controlo. hrIL-23 sem pré-incubação com o anticorpo foi utilizado como controlo positivo. Após 3 dias em cultura, os sobrenadantes celulares foram recolhidos e ensaiados por ELISA, utilizando o duo conjunto IL-17 de ELISA (R & D Systems). Como mostrado na Figura 4, os IL-23p19 mAbs inibem hrIL-23 mediada pela produção de IL-17. Estes mAbs foram mostrados inibir a IL-23 humana (produzido por PBMC humano) mediada pela produção de IL-17.

Em comparação, os IL-23p19 mAbs foram também testados quanto à sua capacidade para inibir a produção de IL-12 induzida por IFN-y. Resumidamente, as células NK92MI foram tratadas com IL-12 pré-incubada com IL-23p19 mAb titulados ou mAbs de controlo. IL-12, sem pré-incubação de anticorpo foi utilizado como controlo positivo. A análise por ELISA realizada 24 horas após a estimulação não mostrou nenhum efeito dos IL-23p19 mAbs em IL-12 induzida pela produção de IFNy demonstrando que os anticorpos não se ligam à subunidade p40 partilhada pela IL-12 e IL-23.

Exemplo 4 - Identificação do epítope de IL-23p19 mAbs e ligação competitiva

A análise de ligação competitiva foi realizada para determinar se os quatro IL-23p19 mAbs neutralizantes se ligam a epítopos de IL-23p19, similares ou diferentes. IL-23 mAbs foram revestidos individualmente em placas de ELISA. MAbs competitivos foram adicionados, seguido pela adição de hrIL-23 biotinilado. Para o controlo positivo, o mesmo mAb para o revestimento foi utilizado como o mAb concorrente ("auto-competição"). A ligação de IL-23 foi detectada utilizando estreptavidina. C1269, C1273 e C1275 todos mostraram competição cruzada, indicando ligação a um sítio espacialmente similar. C1249 mostra pouca ou nenhuma concorrência com C1269 ou C1273 e inibição parcial com C1275. Estes resultados indicam que os mAbs reconhecem epítopos semelhantes ou que se sobrepõem parcialmente em IL-23.

Foi realizado ELISA de competição de anticorpo C1269 rotulado ligado a IL-23 como se mostra na Figura 7. 5 µl de 20 µg/ml de hIL-23, revestida na placa, misturada com 10 nM de C1269rotulado e diluído em série a partir de 3000 nM

a 0 de competidores não marcados, C1249 e C1269, em 25 µl. A ligação relativa foi calculada através da criação do sinal na ausência de competidor de 100%. Os resultados indicam que os anticorpos C1249 e C1269 não competem para o mesmo epítopo de ligação.

Para mapear diretamente os seus epítopos de ligação, os IL-23p19 mAbs, 75 µg de C1249 ou IgG de rato foram misturados com cerca de 65 µg de IL-23 e incubados a 4°C durante a noite. O complexo antigénio-anticorpo foi isolado por cromatografia em gel e transferido para tampão de digestão (0,1 M de Tris-HCL, pH 8,5) utilizando uma unidade de filtro de 100.000 NMWL. A seguir, foi adicionado 4 µg de tripsina (0,16 unidades) em tampão de digestão e incubado durante 2 horas a 37°C. Após a incubação, os complexos foram capturados por esferas de proteína G, lavados duas vezes com PBS e uma vez com bicarbonato de amónio, e os péptidos capturados eluídos em 30 µl de tampão de eluição (10% de acetonitrilo, 0,5% de TFA). A formação de complexos e a digestão com tripsina de C1269 foi realizada da mesma maneira.

Os péptidos eluídos foram analisados por espectrometria de massa MALDI-TOF, conforme descrito abaixo. Eluentes do complexo tripsina-digestão foram dessalinizados por pipetagem da amostra através de uma fita C18, a fita foi molhada com 100% de acetonitrilo seguida pelo equilíbrio com 0,1% de TFA. O eluente foi então ligado ao meio, lavado com TFA a 0,1% e eluído num volume de 2 µL de matriz α-ciano (10mg/mL de α-ciano, 0,1% de TFA, acetonitrilo a 50% em água) e manchado diretamente sobre o alvo MALDI TOF. O MALDI-TOF (Voyager-DE™ STR, ABI) foi calibrado com uma mistura de calibração 2 (ABI). Os espectros foram obtidos

a uma intensidade do laser entre 1500-1800 unidades e massa aquisição na gama de 800-5000 m/z.

Um péptido p19 a m/z = 1248 ($_{74}$IHQGLIFYEK$_{83}$) foi capturado por ambos os mAbs C1249 e C1269. No entanto, com C1269, este péptido era menos intenso e podia não ser ligado especificamente. Estes resultados indicam que a região $_{74}$IHQGLIFYEK$_{83}$ contribui para o epítopo de ligação para C1249 e C1269.

Análise do epítope de mutagênese de troca de proteínas huIL-23p19/muIL-23p19

Tem sido observado que C1269 e C1249 não se ligam a IL-23 do rato, no entanto, C1269, mas não C1249, neutralizam a IL-23 nativa a partir de macaco *Cynomolgus*. Por conseguinte, as diferenças de sequência entre homem, macaco *Cynomolgus*, ratinho IL-23p19 foram analisadas para identificar as regiões de ligação putativas para estes anticorpos monoclonais. A subunidade p19 do macaco *Cynomolgus* foi clonada e sequenciada em Centocor. O alinhamento das sequências p19 humana, *Cynomolgus* e de rato é mostrada a partir da região identificada como compreendendo pelo menos uma porção da região do epítopo para os anticorpos da presente invenção - $_{74}$IHQGLIFYEK$_{83}$. Nesta região de resíduos de aminoácidos 10, há apenas uma única diferença em H75 entre o humano e o macaco *Cynomolgus* IL-23p19. Isto indica que a H75 é crítica para a ligação de C1249, que não neutraliza a IL-23p19 *Cynomolgus*, mas não parece ser crítica para a ligação de C1269.

Com base no alinhamento de sequências, foi realizada a mutagénese de permuta de espécies. Foi gerado um mutante

de IL-23 humana da proteína (designada por "3220") no qual a região péptido tríptico foi mutada para a sequência de ratinho, $_{74}$IRQGLAFYKH$_{83}$, com as quatro mutações destacadas em negrito (quatro mutações pontuais em 3220 - Human $_{75}$His→ Rato $_{75}$Arg, Humano $_{79}$Ile → Rato $_{79}$Ala, Humano $_{82}$Glu → Rato $_{82}$Lys e Humano $_{83}$Lys → Rato $_{83}$His). Foi construída uma segunda proteína mutante (designada por "3397") que incorpora as substituições imediatas D e K imediatamente do C-terminal deste peptídeo -$_{74}$IRQGLAFYKHLLDSDIFK$_{91}$ (a partir de $_{74}$IHQGLIFYEKLLGSDOFT$_{91}$ do tipo selvagem) com as seis mutações destacadas em negrito (as quatro mutações de 3220, juntamente com duas mutações pontuais adicionais Humanos - $_{75}$His → Rato $_{75}$Arg, Humano $_{79}$Ile → Rato $_{79}$Ala, Human $_{82}$Glu → Rato $_{82}$Lys e Humano $_{83}$Lys → Rato $_{83}$His, Human $_{86}$Gly → Rato $_{86}$Asp e Humano $_{91}$Thr → Rato $_{91}$Lys).

Para avaliar a especificidade de ligação para as proteínas mutantes, foi realizada a ligação ELISA por C1249, C1269, bem como o anticorpo de controlo substituto CNTO 209 (de IL-23p19 anti-rato). Os resultados são apresentados nas Figuras 8A, 8B, e 9. Os resultados de ELISA mostram que as mutações em IL-23 p19 (3220) reduzem a atividade de ligação ao C1249 e C1269 por mais de 80% (Figura 5 e as Figuras 8A e 8B). As substituições adicionais no mutante 3397 reduziram ainda mais a ligação em 95% em C1249 e por 90% em C1269.

Cerca de 65µg de IL-23 foi misturado com 75µg de C1249, C1269, IgG de ratinho, respectivamente, e incubado durante a noite a 4°C. O complexo antigénio-anticorpo foi transferido para tampão de digestão usando uma unidade de filtro de 100.000 NMWL. A seguir, foi adicionado 4 µg de tripsina (0,16 unidades) em tampão de digestão e incubado

durante 2 horas a 37°C. Após a digestão, os grânulos de proteína G foram adicionadas ao anticorpo de captura e os fragmentos ligados por anticorpo. Em seguida, os grânulos de proteína G foram lavados uma vez com PBS e duas vezes com 50 mM de bicarbonato de amónio, e os complexos capturados foram eluídos com 30 µl de tampão de eluição (10% de acetonitrilo, 0,5% de ácido trifluoroacético).

Eluentes do complexo tripsina-digestão foram dessalinizados por pipetagem da amostra através de uma Fita C18, lavados com 0,1% de TFA em água e, em seguida eluidos em 2 ml de matriz α-ciano (10 mg/ml de α-ciano, 0,1% de TFA, 50% de acetonitrilo em água) e manchados sobre um alvo MALDI-TOF. O MALDI-TOF (Voyager-DET™ STR, ABI) foi calibrado com uma mistura de calibração 2 (ABI). Espectros foram obtidos a uma intensidade do laser entre 1.500-1.800 unidades e massa aquisição na faixa de 800-5,000 m/z.

Placas MSD de ligação elevada (Meso Scale Diagnostics, Gaithersburg, MD) foram revestidas a 4°C durante a noite, com 5 ηl de amostras diluídas em série, 100 a 0 µg/ml, de diferentes reagentes de proteínas, incluindo a IL-23 humana, IL-23 murina e duas proteínas mutantes de segmento trocado, 3220 e 3397. Cento e cinquenta µl de 5% de tampão Blocker A MSD foram adicionadas a cada poço e incubadas durante 1 hora à temperatura ambiente. As placas foram lavadas três vezes com 0,1 M de tampão HEPES, pH 7,4. Estas proteínas carregadas em micro-poços de ELISA foram incubadas com 25 µL de 2µg/mL de C1249 rotulado MSD Sulfo-TAG, C1269 ou CNTO 209 mAbs. Após a incubação durante 2 horas com agitação à temperatura ambiente, as placas foram lavadas três vezes com 0,1 M de tampão HEPES (pH 7,4). O tampão MSD Read T foi diluído com água destilada (4 vezes)

e dispensado num volume de 150 µl/poço e analisado com um SECTOR Imager 6000.

Análise Estrutural de IL-23

A Figura 6 mostra o modelo estrutural para IL-23 humana baseado na estrutura cristalizada de IL-12 humana (código pdb 1f45). É claro que os resíduos (H75, I79, E82, K83 e G86) são expostos à superfície e agrupados. Esta disposição é típica de epítopos conformacionais para a ligação de anticorpos. Portanto, este segmento ($_{74}$IHQGLIFYEK LLG$_{86}$) pode constituir parte do epítopo de ligação para C1249, bem como espécies de determinantes de especificidade do epítopo. Ligações Ab/Ag típicas encerram aproximadamente 1000 $Å^2$ de área da superfície. Isto sugere que os resíduos expostos adicionais de IL-23p19 na periferia do segmento acima poderiam também ser necessários para um sítio típico de ligação. A inspecção molecular do modelo sugere que os resíduos da hélice C vizinha (resíduos L109, L110, S113, L116, Q114 e Q117) são expostos e iriam formar um aglomerado de superfície maior em conjunto com os resíduos no segmento 74-86. Os resíduos identificados e propostos para fazer parte do epítopo para C1249 são rotulados e demonstrados em modelos da vara na Figura 6. A subunidade p40 é rotulada como 2 e a subunidade p19 identificada como 1.

A sequência para esta parte da hélice C é idêntica entre p19 humano e murino. É plausível parte do epítopo destes resíduos contribuam para a ligação residual dos mutantes de permuta de humano para murino descritas acima. Por conseguinte, o epítopo pode ser constituído por dois segmentos de p19 (74-85 e 108-118) com os resíduos expostos (H75, 179, E82, K83, G86, L109, L110, S113, Q114, L116 e

Q117) para ser mais provavelmente envolvidos em interações diretas de anticorpos.

A análise por mutagénese é realizada com o segmento IL-23p19 que abrange os resíduos 108-118 no qual os resíduos são seletivamente modificados individualmente e/ou em grupos (isto é, várias alterações). A atividade da IL-23 é monitorizada após as mutações terem sido feitas como nas experiências anteriores com o segmento IL-23p19 que abrange os resíduos de aminoácidos 74-86. O epítopo é confirmado com base na alteração da atividade relacionada com as várias combinações de mutações.

Para os fins da presente invenção, 70-100% de aminoácidos ou identidade de sequência de nucleótideos (isto é, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 ou qualquer gama ou valor dentro destes) é determinada utilizando um algoritmo de computador adequado, como é conhecido na técnica.

Será evidente que a invenção pode ser praticada de outra forma do que como particularmente descrito na descrição anterior e exemplos. Numerosas modificações e variações da presente invenção são possíveis à luz dos ensinamentos anteriores e, por isso, estão dentro do âmbito das reivindicações anexas.

Tabelas de sequências

SEQ ID N° 1 - (subunidade de Il-23p19 humana)

```
Met Leu Gly Ser Arg Ala Val Met Leu Leu Leu Leu Pro Trp Thr
1               5                  10                  15
Ala Gln Gly Arg Ala Val Pro Gly Gly Ser Ser Pro Ala Trp Thr Gln
            20                  25                  30
Cys Gln Gln Leu Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp Ser Ala His
        35                  40                  45
Pro Leu Val Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr
    50                  55                  60
Thr Asn Asp Val Pro His Ile Gln Cys Gly Asp Gly Cys Asp Pro Gln
65                  70                  75                  80
Gly Leu Arg Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile His Gln Gly
                85                  90                  95
Leu Ile Phe Tyr Glu Lys Leu Leu Gly Ser Asp Ile Phe Thr Gly Glu
            100                 105                 110
Pro Ser Leu Leu Pro Asp Ser Pro Val Ala Gln Leu His Ala Ser Leu
        115                 120                 125
Leu Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Gly His His Trp Glu Thr
    130                 135                 140
Gln Gln Ile Pro Ser Leu Ser Pro Ser Gln Pro Trp Gln Arg Leu Leu
145                 150                 155                 160
Leu Arg Phe Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val Ala
                165                 170                 175
Ala Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro
            180                 185
```

SEQ ID N° 2 - Sequência de nucleótideo de cadeia pesada C1273

```
Atgagcagtgaacacagacccctcaccatgaacttcgggctcagattgattttccttgtccttacttt
aaaaggtgtccagtgtgacgtgaacttggtggagtctgggggaggcttagtgaagcctggagggtccc
tgaaactctcctgtgcagcctctggattcactttcagtagctataccatgtcttgggttcgccagact
ccggagaagaggctggagtgggtcgcaaccattagtagtggtggtacttacacctactatccagacag
tgtgaagggccgattcaccatctccagagacaatgccaagaacaccctgtacctgcaaatgagcagtc
tgaagtctgaggacacagccatgttttactgtacaagagataaccatgcttacgacaggggccctttc
tttgactactggggccaaggcgccactctcacagtctcctca
```

SEQ ID N° 3 - Sequência de aminoácido de cadeia pesada C1273 (sequências CDR a negrito e sublinhadas)

MSSEHRPLTMNFGLRLIFLVLTLKGVQCDVNLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYTMSWVRQT
PEKRLEWVATISSGGTYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMFYCTRDNHAYDRGPF
FDYWGQGATLTVSS

SEQ ID N° 4 - Sequência de aminoácido CDR 1 de cadeia pesada C1273

GFTFSSYTMS

SEQ ID N° 5 - Sequência de aminoácido CDR 2 de cadeia pesada C1273

TISSGGTYTYYPDSVKG

SEQ ID N° 6 - Sequência de aminoácido CDR 3 de cadeia pesada C1273

DNHAYDRGPFFDY

SEQ ID N° 7 - Sequência de nucleótideo de cadeia leve C1273

Atggattcacaggcccaggttcttttgttactgctgctatgggtttctggtacctgtggggacattgt
gatgtcacagtccccatcctccctagttgtgtcagttggagagaaggttactatgagctgcaagtcca
gtcagaacctcttttataggagtaatcaaaagaaccacttggcctggtaccagcagaaaccagggcag
tctcctacactgctgatttactggacgtccactagggaatctggggtccctgatcgcttcacaggcag
tggatctgggacagatttcactctcaccatcagccgtgtgaaggctgaagacctggcagtttattact
gtcagcaatattatagctatcctccgacgttcggtggaggcaccaagctggaaatcaaa

SEQ ID N° 8 – Sequência de aminoácido de cadeia leve C1273

MDSQAQVLLLLLLWVSGTCGDIVMSQSPSSLVVSVGEKVTMSCKSSQNLFYRSNQKNHLAWYQQKPGQ
SPTLLIYWTSTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISRVKAEDLAVYYCQQYYSYPPTFGGGTKLEIK

SEQ ID N° 9 – Sequência de aminoácido CDR 1 de cadeia leve C1273

KSSQNLFYRSNQKNHLA

SEQ ID N° 10 – Sequência de aminoácido CDR 2 de cadeia leve C1273

WTSTRES

SEQ ID N° 11 – Sequência de aminoácido CDR 3 de cadeia leve C1273

QQYYSYPPT

SEQ ID N° 12 – Sequência de nucleótideo de cadeia pesada C1269

Atgagcagtgaacacagacccctcaccatgaacttcgggctcagattgattttccttgtcctgacttt
aaaaggtgtccagtgtgacgtgaacttggtggagtctgggggaggcttagtgaagcctggagggtccc

tgaaactctcctgtgcagcctctggattcactttcagtagctataccatgtcttgggttcgccagact
ccggagaagaggctggagtgggtcgcaaccattagtagtggtggtacttacacctactatccagacag
tgtgaagggccgattcaccatttccagagacaatgccaagaatacattgtatctgcaaatgagcagtc
tgaagtctgaggacacagccatcttttattgtacaagagataaccatgcttacgacaggggcccttttc
tttgactcctggggccaaggcgccactctcacagtctcctca

SEQ ID N° 13 – Sequência de aminoácido de cadeia pesada C1269

MSSEHRPLTMNFGLRLIFLVLTLKGVQCDVNLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYTMSWVRQT
PEKRLEWVATISSGGTYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAIFYCTRDNHAYDRGPF
FDSWGQGATLTVSS

SEQ ID N° 14 – Sequência de aminoácido CDR 1 de cadeia pesada C1269

GFTFSSYTMS

SEQ ID N° 15 – Sequência de aminoácido CDR 2 de cadeia pesada C1269

ISSGGTYTYYPDSVKG

SEQ ID N° 16 – Sequência de aminoácido CDR 3 de cadeia pesada C1269

DNHAYDRGPFFDS

SEQ ID N° 17 – Sequência de nucleótideo de cadeia leve C1269

Atggattcacaggcccaggttcttatgttactgctgctatgggtttctggtacctgtggggacattgt
gatgtcacagtctccatcctccctagctgtgtcagttggagagaaggttactatgagctgcaagtcca
gtcagaacctcttttataggaataatcaaaagaactacttggcctggtaccagcagaaaccagggcag
tctcctacactgctgatttactggacgtccactagggagtctggggtccctgatcgcttcacaggcag
tggatctgggacagatttcactctcaccatcagccgtgtgaaggctgaagacctggcagtttattact
gtcagcaatattatagctatcctccgacgttcggtggaggcaccaagctggaaatcaaa

SEQ ID N° 18 – Sequência de aminoácido de cadeia leve C1269

MDSQAQVLMLLLLWVSGTCGDIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSCKSSQNLFYRNNQKNYLAWYQQKPGQ
SPTLLIYWTSTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISRVKAEDLAVYYCQQYYSYPPTFGGGTKLEIK

SEQ ID N° 19 – Sequência de aminoácido CDR 1 de cadeia leve C1269

KSSQNLFYRNNQKNYLA

SEQ ID N° 20 – Sequência de aminoácido CDR 2 de cadeia leve C1269

YWTSTRES

SEQ ID N° 21 – Sequência de aminoácido CDR 3 de cadeia leve C1269

QQYYSYPPT

SEQ ID N° 22 – Sequência de nucleótideo de cadeia pesada C1275

Atgtacttgggactgaactgtgtattcatagtttttctcttaaaaggtgtccagagtgaagtgaacct
tgaggagtctggaggaggcttggtgcaacctggaagatccatgaaactctcctgtgttgcctctggat
tcactttcagtaactactggatgacctgggtccgccagtctccagagaaggggcttgagtgggttgct
gaaattagattgaaatctaataattatgcaacacattatgcggagtctgtgaaagggaggttcaccat
ctcaagagatgattccaaaagtagtgtctacctgcaaatgaacaacttaagagctgaagacactgcca
tttattactgtaccaggggggggggttacgacgtaggagcctggtttgcttactggggccaagggact
ctggtcactgtctctgca

SEQ ID N° 23 – Sequência de aminoácido de cadeia pesada C1275

MYLGLNCVFIVFLLKGVQSEVNLEESGGGLVQPGRSMKLSCVASGFTFSNYWMTWVRQSPEKGLEWVA
EIRLKSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNNLRAEDTAIYYCTRGGGYDVGAWFAYWGQGT
LVTVSA

SEQ ID N° 24 – Sequência de aminoácido CDR 1 de cadeia pesada C1275

GFTFSNYWMT

SEQ ID N° 25 – Sequência de aminoácido CDR 2 de cadeia pesada C1275

EIRLKSNNYATHYAESVKG

SEQ ID N° 26 – Sequência de aminoácido CDR 3 de cadeia pesada C1275

GGGYDVGAWFAY

SEQ ID N° 27 – Sequência de nucleótideo de cadeia leve C1275

Atggagtcagacacactcctgctatgggtgctgctgctctgggttccaggctccactggtgacattgt
gctcacccaatctccagcttctttggctgtgtctctagggcagagagccaccatctcctgcagagcca
gtgaaaatgttgaatattatggcacaggtttaattcagtggtaccaacagaaaccaggacagccaccc
aaactcctcatctatgcttcatccaacgtagaatctggggtccctgccaggtttagtggcagtgggtc
tgggacagacttcagcctctacatccatcctgtggaggaggatgatattgcaatgtatttctgtcagc
aaagtaggaaggttccttcgacgttcggtggaggcaccaagctggaaatcaaa

SEQ ID N° 28 – Sequência de aminoácido de cadeia leve C1275

MESDTLLLWVLLLWVPGSTGDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASENVEYYGTGLIQWYQQKPGQPP
KLLIYASSNVESGVPARFSGSGSGTDFSLYIHPVEEDDIAMYFCQQSRKVPSTFGGGTKLEIK

SEQ ID N° 29 – Sequência de aminoácido CDR 1 de cadeia leve C1275

RASENVEYYGTGLIQ

SEQ ID N° 30 – Sequência de aminoácido CDR 2 de cadeia leve C1275

ASSNVES

SEQ ID N° 31 – Sequência de aminoácido CDR 3 de cadeia leve C1275

QQSRKVPST

SEQ ID N° 32 – Sequência de nucleótideo de cadeia pesada C1249

Atggtgttggggctgaagtgggttttctttgttgtttttatcaaggtgtgcattgtgaggtgcaact
tgttgagtctggtggaggattggtgcagcctaaaggatcattgaaactctcatgtgccgcctctggtt
tcaacttcaatacctatgccatgcactgggtctgccaggctccaggaaagggtttggaatggattggt
cgcataagaagtaaaagtcataattatgcaacagactatgccgatccagtgaaagacagattcaccat
ctccagagatgattcacaaggcttgctctatctgctaatgaacaacctgaaaactgaggacacagcca
tgtattactgtatgagggagggaatctatggtagttttgcttactggggccaagggactctggtcact
gtctctgca

SEQ ID N° 33 – Sequência de aminoácido de cadeia pesada C1249

MVLGLKWVFFVVFYQGVHCEVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFNFNTYAMHWVCQAPGKGLEWIG
RIRSKSHNYATDYADPVKDRFTISRDDSQGLLYLLMNNLKTEDTAMYYCMREGIYGSFAYWGQGTLVT
VSA

SEQ ID N° 34 – Sequência de aminoácido CDR 1 de cadeia pesada C1249

GFNFNTYAMH

SEQ ID N° 35 – Sequência de aminoácido CDR 2 de cadeia pesada C1249

IRSKSHNYATDYADPVKD

SEQ ID N° 36 – Sequência de aminoácido CDR 3 de cadeia pesada C1249

EGIYGSFAY

SEQ ID N° 37 – Sequência de nucleótideo de cadeia leve C1249

Atggagacagacacactcctgttatgggtactgctgctctgggttccaggttccactggtgacattgt
gctgacacagtctcctgcttccttagctgtatctctggggcagagggccaccatctcatgcagggcca
gcaaaagtgtcagttcatctgcctatagttttttccactggtaccaacagaagccaggacagccaccc
aaactcctcatctatcttgcatccaacctacaatctggggtccctgccaggttcagtggcagtgggtc
tgggacagacttcaccctcaacatccatcctgtggaggcggaggatgctgcaacctattactgtcaac
acagtggggagcttccattcacgttcggctcggggacaaagttggaaataaaa

SEQ ID N° 38 – Sequência de aminoácido de cadeia leve C1249

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSSSAYSFFHWYQQKPGQPPKL
LIYLASNLQSGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEAEDAATYYCQHSGELPFTFGSGTKLEIK

SEQ ID N° 39 – Sequência de aminoácido CDR 1 de cadeia leve C1249

CRASKSVSSSAYSFFH

SEQ ID N° 40 – Sequência de aminoácido CDR 2 de cadeia leve C1249

LASNLQS

SEQ ID N° 41 – Sequência de aminoácido CDR 3 de cadeia leve C1249

CQHSGELPFT

Listagem de sequências

<110> > Centocor, Inc.

<120> Anti-IL-23 Antibodies, Compositions, Methods and Users

<130> CEN5103PCT

<140> To Be Assigned
<141> 2006-06-30

<150> 60/695,831
<151> 2005-06-30

<160> 41

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1
<211> 189
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 1

```
Met Leu Gly Ser Arg Ala Val Met Leu Leu Leu Leu Pro Trp Thr
1               5                  10                  15
Ala Gln Gly Arg Ala Val Pro Gly Gly Ser Ser Pro Ala Trp Thr Gln
            20                  25                  30
Cys Gln Gln Leu Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp Ser Ala His
        35                  40                  45
Pro Leu Val Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr
    50                  55                  60
Thr Asn Asp Val Pro His Ile Gln Cys Gly Asp Gly Cys Asp Pro Gln
65                  70                  75                  80
Gly Leu Arg Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile His Gln Gly
                85                  90                  95
Leu Ile Phe Tyr Glu Lys Leu Leu Gly Ser Asp Ile Phe Thr Gly Glu
            100                 105                 110
Pro Ser Leu Leu Pro Asp Ser Pro Val Ala Gln Leu His Ala Ser Leu
        115                 120                 125
Leu Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Gly His His Trp Gln Thr
    130                 135                 140
Gln Gln Ile Pro Ser Leu Ser Pro Ser Gln Pro Trp Gln Arg Leu Leu
145                 150                 155                 160
Leu Arg Phe Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val Ala
                165                 170                 175
Ala Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro
            180                 185
```

<210> 2
<211> 450
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 2

```
atgagcagtg aacacagacc cctcaccatg aacttcgggc tcagattgat tttccttgtc     60
cttactttaa aaggtgtcca gtgtgacgtg aacttggtgg agtctggggg aggcttagtg    120
aagcctggag ggtccctgaa actctcctgt gcagcctctg gattcacttt cagtagctat    180
accatgtctt gggttcgcca gactccggag aagaggctgg agtgggtcgc aaccattagt    240
agtggtggta cttacaccta ctatccagac agtgtgaagg gccgattcac catctccaga    300
gacaatgcca agaacaccct gtacctgcaa atgagcagtc tgaagtctga ggacacagcc    360
atgttttact gtacaagaga taaccatgct tacgacaggg gcccttttct tgactactgg    420
ggccaaggcg ccactctcac agtctcctca                                     450
```

<210> 3
<211> 150
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 3

```
Met Ser Ser Glu His Arg Pro Leu Thr Met Asn Phe Gly Leu Arg Leu
1               5                  10                  15
Ile Phe Leu Val Leu Thr Leu Lys Gly Val Gln Cys Asp Val Asn Leu
            20                  25                  30
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
        35                  40                  45
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Ser Trp
    50                  55                  60
Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser
65                  70                  75                  80
Ser Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
                85                  90                  95
Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser
            100                 105                 110
Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Phe Tyr Cys Thr Arg Asp Asn
        115                 120                 125
His Ala Tyr Asp Arg Gly Pro Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ala
    130                 135                 140
Thr Leu Thr Val Ser Ser
145                 150
```

<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4

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

<210> 5
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 5

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

<210> 6
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6

```
Asp Asn His Ala Tyr Asp Arg Gly Pro Phe Phe Asp Tyr
1               5                   10
```

<210> 7
<211> 399
<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

```
atggattcac aggcccaggt tcttttgtta ctgctgctat gggtttctgg tacctgtggg     60
gacattgtga tgtcacagtc cccatcctcc ctagttgtgt cagttggaga gaaggttact    120
atgagctgca agtccagtca gaacctcttt tataggagta atcaaaagaa ccacttggcc    180
tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct acactgctga tttactggac gtccactagg    240
gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc    300
atcagccgtg tgaaggctga agacctggca gtttattact gtcagcaata ttatagctat    360
cctccgacgt tcggtggagg caccaagctg gaaatcaaa                           399
```

<210> 8
<211> 133
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8

```
Met Asp Ser Gln Ala Gln Val Leu Leu Leu Leu Leu Trp Val Ser
1               5                  10                  15
Gly Thr Cys Gly Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Val
            20                  25                  30
Val Ser Val Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn
        35                  40                  45
Leu Phe Tyr Arg Ser Asn Gln Lys Asn His Leu Ala Trp Tyr Gln Gln
    50                  55                  60
Lys Pro Gly Gln Ser Pro Thr Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg
65                  70                  75                  80
Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
                85                  90                  95
Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr
            100                 105                 110
Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr
        115                 120                 125
Lys Leu Glu Ile Lys
    130
```

<210> 9
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 9

```
Lys Ser Ser Gln Asn Leu Phe Tyr Arg Ser Asn Gln Lys Asn His Leu
1               5                  10                  15
Ala
```

<210> 10
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 10

```
Trp Thr Ser Thr Arg Glu Ser
1               5
```

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 11

```
Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Pro Thr
1               5
```

<210> 12
<211> 450
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 12

```
atgagcagtg aacacagacc cctcaccatg aacttcgggc tcagattgat tttccttgtc     60
ctgactttaa aaggtgtcca gtgtgacgtg aacttggtgg agtctggggg aggcttagtg    120
aagcctggag ggtccctgaa actctcctgt gcagcctctg gattcacttt cagtagctat    180
accatgtctt gggttcgcca gactccggag aagaggctgg agtgggtcgc aaccattagt    240
agtggtggta cttacaccta ctatccagac agtgtgaagg gccgattcac catttccaga    300
gacaatgcca agaatacatt gtatctgcaa atgagcagtc tgaagtctga ggacacagcc    360
atcttttatt gtacaagaga taaccatgct tacgacaggg gccctttctt tgactcctgg    420
ggccaaggcg ccactctcac agtctcctca                                     450
```

<210> 13
<211> 150
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 13

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

 Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Ser Trp
     50                  55                  60
 Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser
 65                  70                  75                  80
 Ser Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
                 85                  90                  95
 Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser
            100                 105                 110
 Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile Phe Tyr Cys Thr Arg Asp Asn
        115                 120                 125
 His Ala Tyr Asp Arg Gly Pro Phe Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Ala
     130                 135                 140
 Thr Leu Thr Val Ser Ser
 145                 150
```

<210> 14
<211> 10
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

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

<210> 15
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 15

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

<210> 16
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16

```
Asp Asn His Ala Tyr Asp Arg Gly Pro Phe Phe Asp Ser
1               5                   10
```

<210> 17
<211> 399
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 17

```
atggattcac aggcccaggt tcttatgtta ctgctgctat gggtttctgg tacctgtggg     60
gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctagctgtgt cagttggaga gaaggttact    120
atgagctgca agtccagtca gaacctcttt tataggaata atcaaaagaa ctacttggcc    180
tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct acactgctga tttactggac gtccactagg    240
gagtctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc    300

atcagccgtg tgaaggctga agacctggca gtttattact gtcagcaata ttatagctat    360
cctccgacgt tcggtggagg caccaagctg gaaatcaaa                            399
```

<210> 18
<211> 133
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18

```
Met Asp Ser Gln Ala Gln Val Leu Met Leu Leu Leu Leu Trp Val Ser
1               5                  10                  15
Gly Thr Cys Gly Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala
            20                  25                  30
Val Ser Val Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn
        35                  40                  45
Leu Phe Tyr Arg Asn Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln
    50                  55                  60
Lys Pro Gly Gln Ser Pro Thr Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg
65                  70                  75                  80
Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
                85                  90                  95
Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr
            100                 105                 110
Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr
        115                 120                 125
Lys Leu Glu Ile Lys
    130
```

<210> 19
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 19

```
Lys Ser Ser Gln Asn Leu Phe Tyr Arg Asn Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1               5                  10                  15

Ala
```

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 20

```
                    Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Glu Ser
                    1               5
```

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 21

```
                  Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Pro Thr
                  1               5
```

<210> 22
<211> 426
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 22

```
atgtacttgg gactgaactg tgtattcata gtttttctct taaaaggtgt ccagagtgaa     60
gtgaaccttg aggagtctgg aggaggcttg gtgcaacctg gaagatccat gaaactctcc    120
tgtgttgcct ctggattcac tttcagtaac tactggatga cctgggtccg ccagtctcca    180
gagaaggggc ttgagtgggt tgctgaaatt agattgaaat ctaataatta tgcaacacat    240
tatgcggagt ctgtgaaagg gaggttcacc atctcaagag atgattccaa aagtagtgtc    300
tacctgcaaa tgaacaactt aagagctgaa gacactgcca tttattactg taccaggggg    360
gggggttacg acgtaggagc ctggtttgct tactggggcc aagggactct ggtcactgtc    420
tctgca                                                               426
```

<210> 23
<211> 142
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 23

```
Met Tyr Leu Gly Leu Asn Cys Val Phe Ile Val Phe Leu Leu Lys Gly
1               5                  10                  15
Val Gln Ser Glu Val Asn Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
            20                  25                  30
Pro Gly Arg Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe
        35                  40                  45
Ser Asn Tyr Trp Met Thr Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu
    50                  55                  60
Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
                85                  90                  95
Lys Ser Ser Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Ile Tyr Tyr Cys Thr Arg Gly Gly Gly Tyr Asp Val Gly Ala Trp
        115                 120                 125
Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
    130                 135                 140
```

<210> 24
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 24

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

<210> 25
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 25

```
Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu Ser
1               5                  10                  15
Val Lys Gly
```

<210> 26

<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 26

```
Gly Gly Gly Tyr Asp Val Gly Ala Trp Phe Ala Tyr
1               5                   10
```

<210> 27
<211> 393
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 27

```
atggagtcag acacactcct gctatgggtg ctgctgctct gggttccagg ctccactggt     60
gacattgtgc tcacccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagagccacc    120
atctcctgca gagccagtga aaatgttgaa tattatggca caggtttaat tcagtggtac    180
caacagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatg cttcatccaa cgtagaatct    240
ggggtccctg ccaggtttag tggcagtggg tctgggacag acttcagcct ctacatccat    300
cctgtggagg aggatgatat tgcaatgtat ttctgtcagc aaagtaggaa ggttccttcg    360
acgttcggtg gaggcaccaa gctggaaatc aaa                                 393
```

<210> 28
<211> 131
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 28

```
Met Glu Ser Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1               5                   10                  15
Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala
            20                  25                  30
Val Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn
        35                  40                  45
Val Glu Tyr Tyr Gly Thr Gly Leu Ile Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
    50                  55                  60
Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ser Ser Asn Val Glu Ser
65                  70                  75                  80
Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser
                85                  90                  95
Leu Tyr Ile His Pro Val Glu Glu Asp Asp Ile Ala Met Tyr Phe Cys
            100                 105                 110
Gln Gln Ser Arg Lys Val Pro Ser Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
        115                 120                 125

                    Glu Ile Lys
                        130
```

<210> 29
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 29

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

<210> 30
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 30

Ala Ser Ser Asn Val Glu Ser
1 5

<210> 31
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 31

Gln Gln Ser Arg Lys Val Pro Ser Thr
1 5

<210> 32
<211> 417
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 32

atggtgttgg ggctgaagtg ggttttcttt gttgtttttt atcaaggtgt gcattgtgag 60
gtgcaacttg ttgagtctgg tggaggattg gtgcagccta aaggatcatt gaaactctca 120
tgtgccgcct ctggtttcaa cttcaatacc tatgccatgc actgggtctg ccaggctcca 180
ggaaagggtt tggaatggat tggtcgcata agaagtaaaa gtcataatta tgcaacagac 240
tatgccgatc cagtgaaaga cagattcacc atctccagag atgattcaca aggcttgctc 300
tatctgctaa tgaacaacct gaaaactgag gacacagcca tgtattactg tatgagggag 360
ggaatctatg gtagttttgc ttactggggc caagggactc tggtcactgt ctctgca 417

<210> 33
<211> 139
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33

Met Val Leu Gly Leu Lys Trp Val Phe Phe Val Val Phe Tyr Gln Gly
1 5 10 15

```
Val His Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
            20                  25                  30
Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Phe
        35                  40                  45
Asn Thr Tyr Ala Met His Trp Val Cys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
    50                  55                  60
Glu Trp Ile Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ser His Asn Tyr Ala Thr Asp
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Asp Pro Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
                85                  90                  95
Gln Gly Leu Leu Tyr Leu Leu Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Met Tyr Tyr Cys Met Arg Glu Gly Ile Tyr Gly Ser Phe Ala Tyr
        115                 120                 125
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
    130                 135
```

<210> 34
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 34

```
Gly Phe Asn Phe Asn Thr Tyr Ala Met His
1               5                   10
```

<210> 35
<211> 18
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 35

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

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36

```
Glu Gly Ile Tyr Gly Ser Phe Ala Tyr
1               5
```

<210> 37
<211> 393
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 37

```
atggagacag acacactcct gttatgggta ctgctgctct gggttccagg ttccactggt     60
gacattgtgc tgacacagtc tcctgcttcc ttagctgtat ctctggggca gagggccacc    120


atctcatgca gggccagcaa aagtgtcagt tcatctgcct atagtttttt ccactggtac    180
caacagaagc caggacagcc acccaaactc ctcatctatc ttgcatccaa cctacaatct    240
ggggtccctg ccaggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat    300
cctgtggagg cggaggatgc tgcaacctat tactgtcaac acagtgggga gcttccattc    360
acgttcggct cggggacaaa gttggaaata aaa                                 393
```

<210> 38
<211> 131
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38

```
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1               5                  10                  15
Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala
            20                  25                  30
Val Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser
        35                  40                  45
Val Ser Ser Ser Ala Tyr Ser Phe Phe His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
    50                  55                  60
Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Gln Ser
65                  70                  75                  80
Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
                85                  90                  95
Leu Asn Ile His Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
            100                 105                 110
Gln His Ser Gly Glu Leu Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu
        115                 120                 125
Glu Ile Lys
    130
```

<210> 39
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 39

```
Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Ser Ser Ala Tyr Ser Phe Phe His
1               5                  10                  15
```

<210> 40
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 40

```
Leu Ala Ser Asn Leu Gln Ser
1               5
```

<210> 41
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 41

Cys Gln His Ser Gly Glu Leu Pro Phe Thr
1 5 10

REIVINDICAÇÕES

1. Anticorpo IL-23p19 isolado, em que o referido anticorpo se liga a IL-23p19 humana ou um fragmento a um epítopo que compreende porções da SEQ ID N°: 1 compreendendo os resíduos de aminoácidos 93-102, 93-110 e 127-137 da SEQ ID N°: 1.

2. Anticorpo isolado da reivindicação 1, em que o referido anticorpo é selecionado do grupo que consiste em anticorpo quimérico, humanizado, manipulado e humano.

3. Anticorpo de IL-23p19 isolado de acordo com a reivindicação 1, que compreende pelo menos uma região variável de cadeia leve e pelo menos uma região variável da cadeia pesada, a referida região variável da cadeia leve compreendendo:
   uma sequência de aminoácidos de região determinante de complementaridade da cadeia leve 1 (CDRL1) da SEQ ID N°: 9;
   uma sequência de aminoácidos CDRL2 de SEQ ID N°: 10; e uma sequência de aminoácidos CDRL3 de SEQ ID N°: 11,
   e a referida região variável da cadeia pesada compreendendo:
   uma sequência de aminoácidos de região determinante de complementaridade da cadeia pesada 1 (CDRH1) de SEQ ID N°: 4;

   uma sequência de aminoácidos CDRH2 de SEQ ID N°: 5; e uma sequência de aminoácidos CDRH3 de SEQ ID N°: 6.

4. Anticorpo de IL-23p19 isolado de acordo com a reivindicação 1, compreendendo uma sequência de aminoácidos variável de cadeia leve da SEQ ID N°: 8.

5. Anticorpo de IL-23p19 isolado de acordo com a reivindicação 1, compreendendo uma sequência de aminoácidos variável de cadeia pesada da SEQ ID N°: 3.

6. Anticorpo de IL-23p19 isolado, compreendendo a região variável de cadeia leve da reivindicação 4 e a região variável de cadeia pesada da reivindicação 5.

7. Anticorpo isolado de qualquer uma das reivindicações 3-6, em que o referido anticorpo é selecionado do grupo que consiste em anticorpo quimérico, humanizado e enxertado com CDR, e manipulado.

8. Anticorpo que se liga competitivamente a IL-23p19 com o anticorpo isolado de IL-23p19 de acordo com qualquer das reivindicações 1-7.

9. Anticorpo de IL-23p19 de acordo com qualquer das reivindicações 1-8, em que o referido anticorpo se liga a IL-23p19 com, pelo menos, uma afinidade selecionada a partir de pelo menos 10^{-9} M, pelo menos, 10^{-10} M, pelo menos, 10^{-11} M, e, pelo menos, 10^{-12} M, pelo menos, 10^{-13} M, pelo menos, 10^{-14} M, e, pelo menos, 10^{-15} M, tal como determinado por ressonância de plasmon de superfície ou o método Kinexa.

10. Anticorpo da reivindicação 9, em que o referido anticorpo se liga a IL-23p19 com uma afinidade entre cerca de 3,38 x 10^{-10} M e cerca de 4,3 x 10^{-11} M, tal como determinado por ressonância de plasmon de superfície.

11. Anticorpo de IL-23p19 de acordo com qualquer das reivindicações 1-10, em que o referido anticorpo neutraliza substancialmente, pelo menos, uma atividade biológica de, pelo menos, um polipeptídeo de IL-23.

12. Molécula de ácido nucleico isolado que codifica um anticorpo de IL-23p19 isolado de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-10.

13. Molécula de ácido nucleico isolado compreendendo pelo menos um dos seguintes:
uma sequência de nucleótideos de cadeia leve de SEQ ID N°: 7; e
uma sequência de nucleótideos da cadeia pesada de SEQ ID N°: 2.

14. Vector de ácido nucleico isolado compreendendo uma molécula de ácido nucleico isolada de acordo com as reivindicações 12 ou 13.

15. Célula hospedeira procariótica ou eucariótica que compreende a molécula de ácido nucleico isolado de acordo com as reivindicações 12 ou 13.

16. Célula hospedeira de acordo com a reivindicação 15, em que a referida célula hospedeira é, pelo menos, uma selecionada a partir de células de COS-1, COS-7, HEK293, BHK21, CHO, BSC-I, Hep G2, 653, SP2/0, 293, HeLa, mieloma ou linfoma, ou quaisquer células derivativas, imortalizadas ou transformadas.

17. Método para produzir pelo menos um anticorpo de IL-23p19, compreendendo a tradução da molécula de ácido nucleico de acordo com as reivindicações 12 ou 13, sob condições *in vitro*, *in vivo* ou *in situ*, de tal modo que o anticorpo IL-23p19 é expresso em quantidades detectáveis ou recuperáveis.

18. Composição compreendendo pelo menos um anticorpo isolado de IL-23p19 de acordo com qualquer uma das

reivindicações 1-10 e, pelo menos, um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável.

19. Composição de acordo com a reivindicação 18, compreendendo ainda pelo menos um composto ou polipeptídeo selecionado a partir de um marcador detectável ou um repórter, um antagonista de TNF, um medicamento anti-infeccioso, um medicamento do sistema cardiovascular (CV), um medicamento do sistema nervoso central (SNC), um medicamento do sistema nervoso autónomo (SNA), um medicamento do trato respiratório, um medicamento do trato gastrintestinal (GI), um medicamento hormonal, um medicamento para o fluído ou o equilíbrio eletrolítico, um medicamento hematológico, um antineoplásico, um medicamento de imunomodulação, um medicamento oftálmico, ótico ou nasal, um medicamento tópico, um medicamento nutricional, uma citoquina, e um antagonista da citocina.

20. Composição compreendendo uma quantidade eficaz de pelo menos um anticorpo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-17 para utilização num método para o diagnóstico ou tratamento de uma condição relacionada com a IL-23, numa célula, tecido, órgão ou animal, compreendendo o contacto ou administração da referida composição com a dita célula, tecido, órgão ou animal.

21. Composição de acordo com a reivindicação 20, em que a condição relacionada com a IL-23 é selecionada a partir do grupo constituído por psoríase, artrite psoriática, doença de Crohn, esclerose múltipla, neurite óptica e síndroma isolado clinicamente.

22. Composição de acordo com a reivindicação 21, em que a referida quantidade eficaz é de cerca de 0,001-50 mg/kg das referidas células, tecido, órgão ou animal.

23. Composição de acordo com a reivindicação 21, em que o referido contacto ou a referida administração é de, pelo menos, um modo selecionado de entre parentérico, subcutâneo, intramuscular, intravenoso, intra-articular, intra-brônquico, intra-abdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitário, intracelial, intracerebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intra-hepático, intramiocardial, intraosteal, intrapélvico, intrapericardíaco, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intra-rectal, intrarenal, intra-retiniano, intraespinal, intra-sinovial, intratorácico, intra-uterino, intravesical, intralesional, bolus, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal e transdérmico.

24. Composição de acordo com a reivindicação 21, que compreende ainda a administração de, antes, simultaneamente ou após o referido contacto ou administração, pelo menos uma composição que compreende uma quantidade eficaz de pelo menos um composto ou polipeptídeo selecionado a partir de um marcador detectável ou um repórter, um medicamento anti-infeccioso, um medicamento do sistema cardiovascular (CV), um medicamento sistema nervoso central (SNC), um medicamento do sistema nervoso autónomo (ANS), um medicamento do trato respiratório, um medicamento do trato gastrointestinal (GI), um fármaco hormonal, um fármaco para o fluído ou o balanço electrólito, um medicamento hematológico, um antineoplásico, um fármaco de imunomodulação, um medicamento oftálmico, ótico ou nasal, um medicamento tópico, um medicamento nutricional, uma citoquina e um antagonista de citoquina.

25. Dispositivo médico, que compreende um anticorpo de IL-23p19 de acordo com qualquer das reivindicações 1-10, em que o referido dispositivo é adequado para contacto ou administração com o referido anticorpo de IL-23p19, por, pelo menos, um modo selecionado de entre parentérico, subcutâneo, intramuscular, intravenoso, intra-articular, intra-brônquico, intra-abdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitário, intracelial, intracerebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intra-hepático, intramiocardial, intraosteal, intrapélvico, intrapericardíaco, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intra-rectal, intrarenal, intra-retiniano, intraespinal, intra-sinovial, intratorácico, intra-uterino, intravesical, intralesional, bolus, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal e transdérmico.

26. Método para produzir um anticorpo IL-23p19 isolado de acordo com qualquer das reivindicações 1-10, compreendendo o fornecimento de uma célula hospedeira ou animal transgénico ou planta transgénica ou célula vegetal capaz de expressar em quantidades recuperáveis o referido anticorpo.

27. Anticorpo de IL-23p19 produzido pelo método de acordo com a reivindicação 26.

28. Anticorpo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-17 para utilização em terapia.

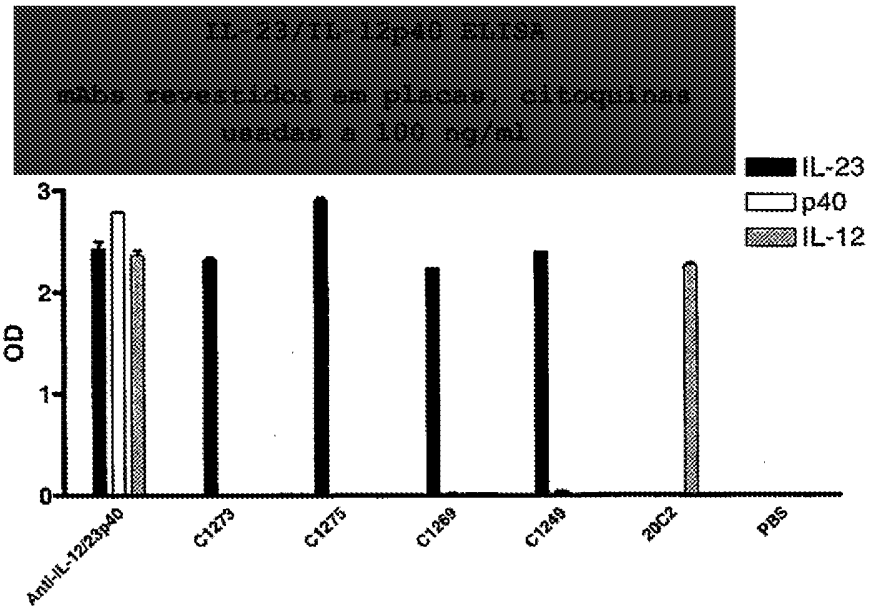

IL-23/IL-12p40 ELISA
mAbs revestidos em placas, citoquinas
usadas a 100 ng/ml
IL-23
p40
IL-12
OD
3
2
1
0
Anti-IL-12/23p40
C1273
C1275
C1269
C1249
20C2
PBS

Figura 1

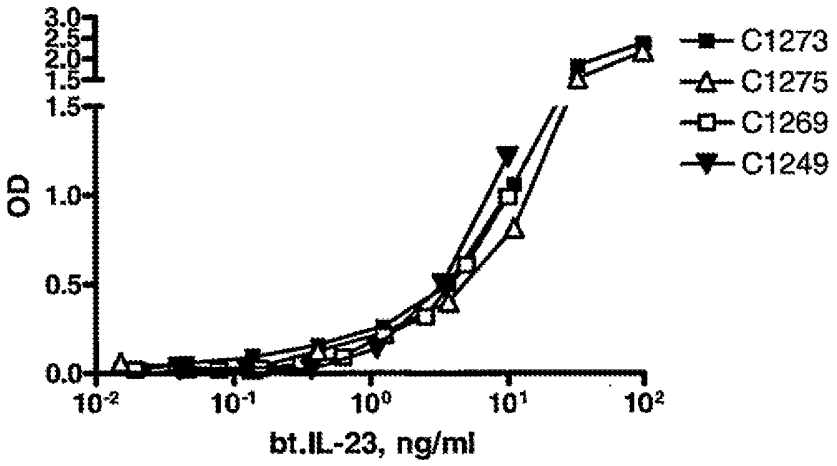

3.0
2.5
2.0
1.5
1.5
1.0
0.5
0.0
OD
10^{-2}
10^{-1}
10^{0}
10^{1}
10^{2}
bt.IL-23, ng/ml
C1273
C1275
C1269
C1249

Figura 2

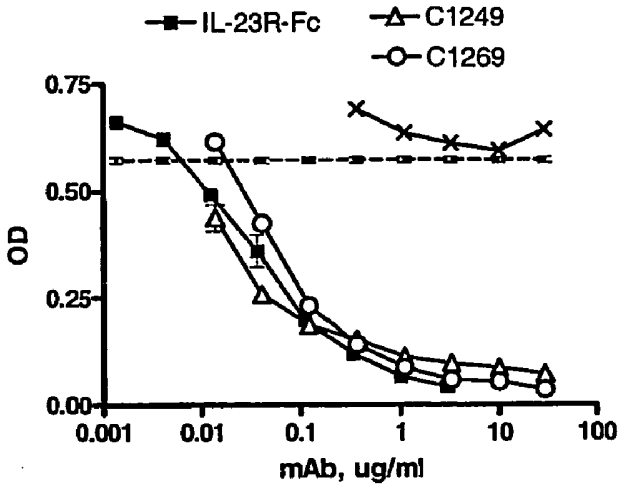

IL-23R-Fc
C1249
C1269
0.75
0.50
0.25
0.00
OD
0.001
0.01
0.1
1
10
100
mAb, ug/ml

Figura 3A

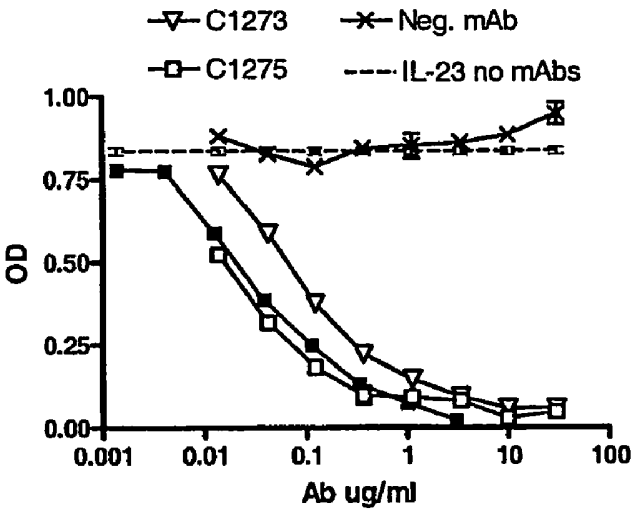

C1273
Neg. mAb
C1275
IL-23 no mAbs
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
OD
0.001
0.01
0.1
1
10
100
Ab ug/ml

Figura 3B

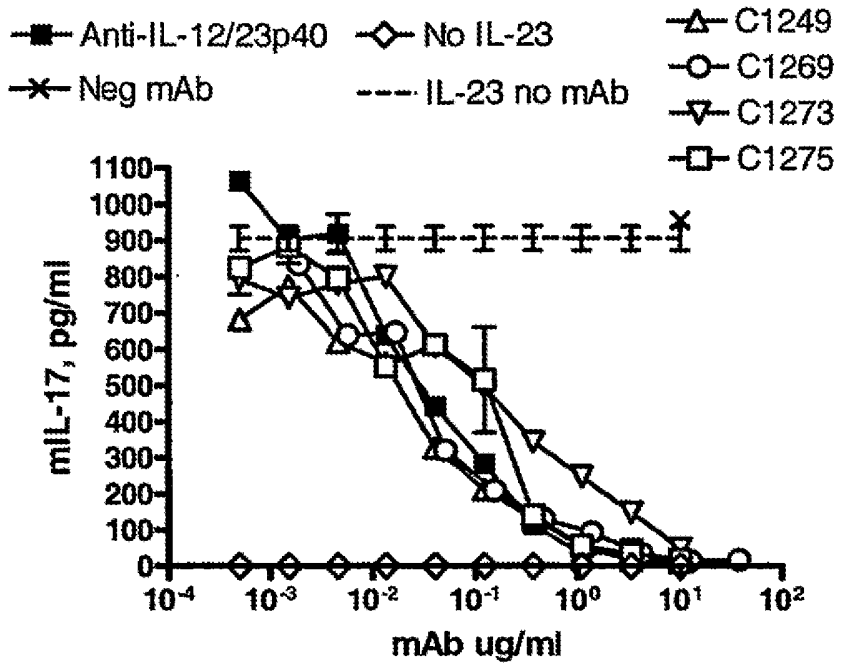

Anti-IL-12/23p40
No IL-23
C1249
C1269
C1273
C1275
Neg mAb
IL-23 no mAb
mIL-17, pg/ml
1100
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
mAb ug/ml

Figura 4

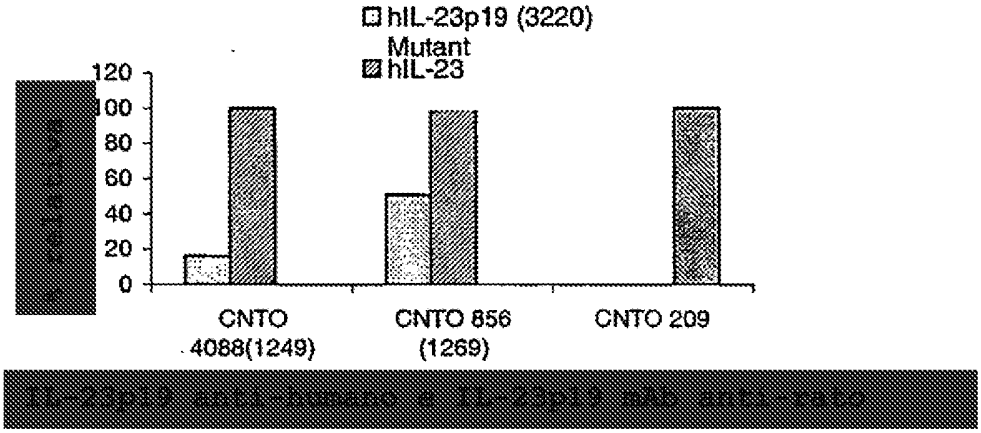

hIL-23p19 (3220)
Mutant
hIL-23
120
100
80
60
40
20
0
CNTO 4088(1249)
CNTO 856 (1269)
CNTO 209

Figura 5

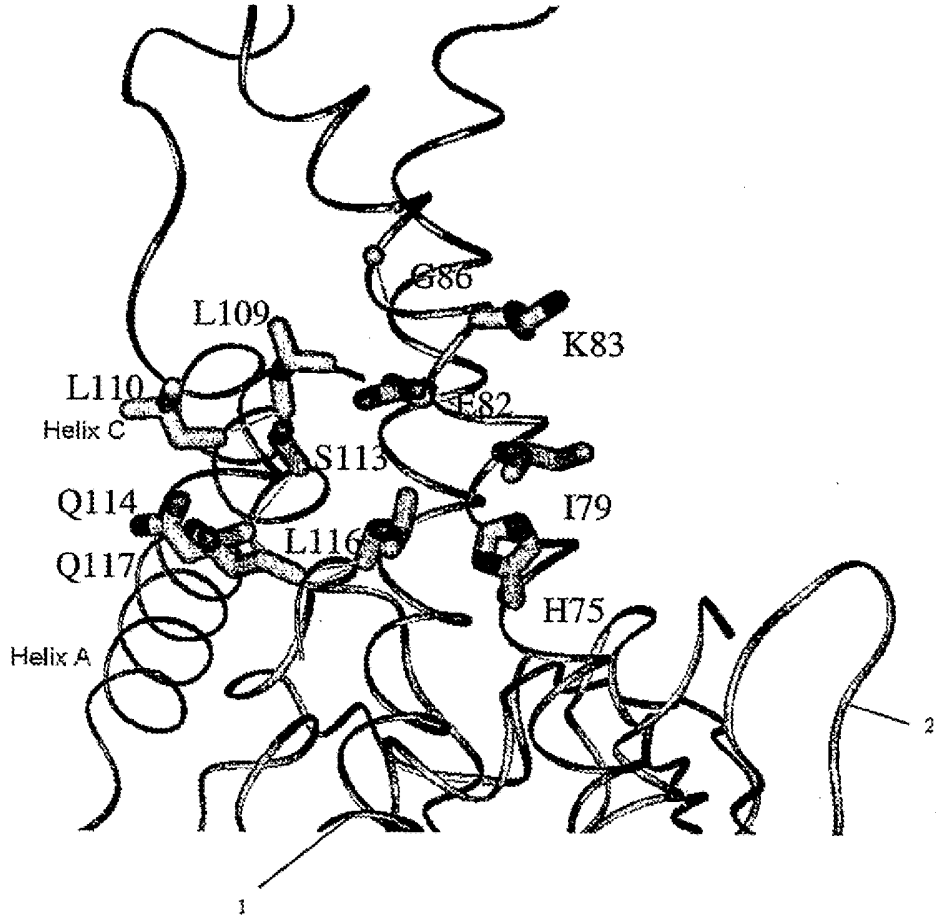

G86
L109
K83
L110
E82
Helix C
S113
Q114
I79
L116
Q117
H75
Helix A
2
1

Figura 6

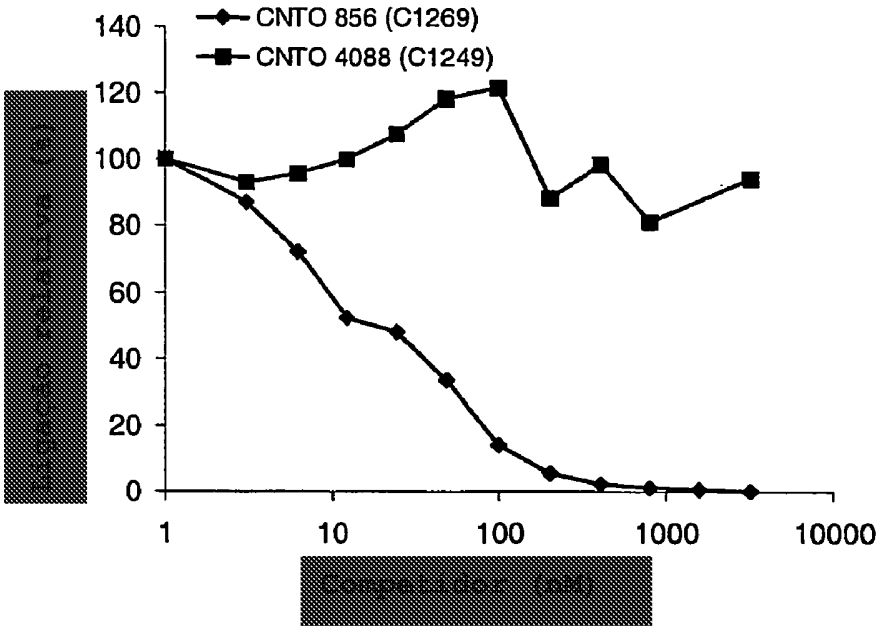

CNTO 856 (C1269)
CNTO 4088 (C1249)
140
120
100
80
60
40
20
0
1
10
100
1000
10000

Figura 7

Impacto das mutações de IL-23 na ligação de CNTO 4088 (C1249)

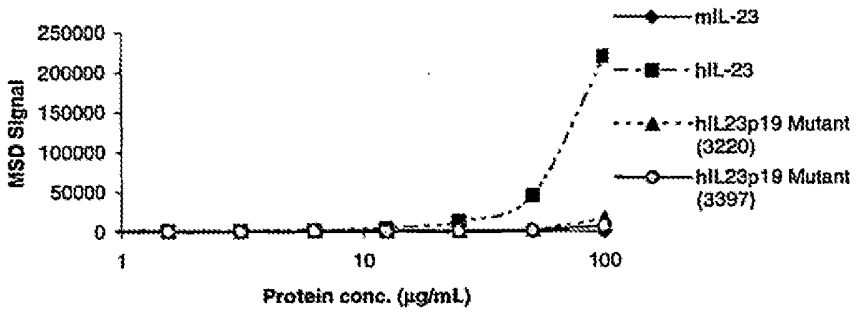


Figura 8A

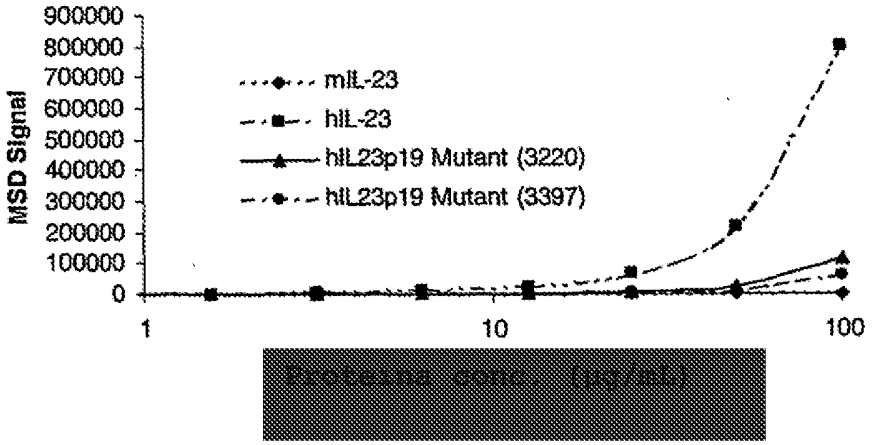


Figura 8B

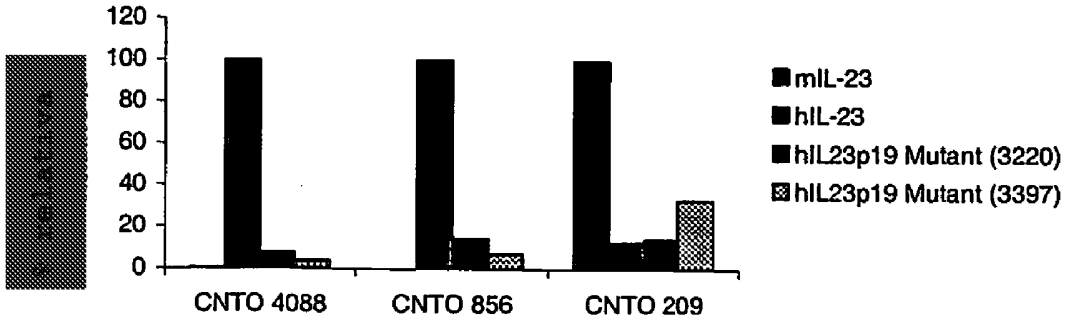

120
100
80
60
40
20
0
CNTO 4088
CNTO 856
CNTO 209
mIL-23
hIL-23
hIL23p19 Mutant (3220)
hIL23p19 Mutant (3397)

Figura 9