República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112021007092-3 A2

(22) Data do Depósito: 16/10/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 03/08/2021

(54) Título: MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE MIASTENIA GRAVE

(51) Int. Cl.: A61P 37/06; A61K 39/395; C07K 16/28.

(30) Prioridade Unionista: 16/10/2018 US 62/746,174.

(71) Depositante(es): UCB BIOPHARMA SRL.

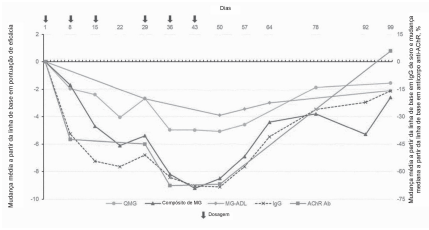
(72) Inventor(es): MELISSA KAYE BROCK; WILLIAM JAMES BYRNES; BERNHARD HEINRICH GREVE; CLAUS PETER KIESSLING; GRANT LANGDON; ELIZABETH WEBSTER MANIS.

(86) Pedido PCT: PCT EP2019078093 de 16/10/2019

(87) Publicação PCT: WO 2020/079086 de 23/04/2020

(85) Data da Fase Nacional: 14/04/2021

(57) Resumo: MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE MIASTENIA GRAVE. A revelação refere-se a um método de tratamento ou prevenção de Miastenia Grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, com uso de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo. Em particular, o método fornece regimes de dosagem adequados para tal tratamento.



“MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE MIASTENIA GRAVE”

[0001] A revelação refere-se a um método de tratamento de miastenia grave (MG) com uso de anticorpos específicos a FcRn.

[0002] O FcRn similar a classe I de MHC neonatal recicla imunoglobulina e albumina da maioria das células e as transporta de modo bidirecional através de barreiras epiteliais para afetar a imunidade sistêmica e mucosal. Foi mostrado que FcRn resgata tanto IgG quanto albumina da degradação lisossomal intracelular reciclando-se os mesmos a partir da ordenação de endossoma à superfície celular (Anderson et al, 2006). Em relação a IgG, isso é alcançado pela interação de IgG com o receptor, FcRn. Desse modo, em efeito, FcRn recupera IgG, salvando mesmo da degradação e retornando-o para circulação. Albumina é similarmente reciclada por FcRn, embora por meio de um sítio de ligação diferente na molécula de FcRn. Foi mostrado que o knockout ou bloqueio de FcRn remove essa reciclagem resultando em catabolismo endossomal de IgG e uma redução marcada de concentrações de IgG tanto nos compartimentos vasculares quanto nos compartimentos extravasculares (tecido). Em efeito, o bloqueio de FcRn acelera a remoção de IgG endógeno e, se o sítio de ligação de albumina também for bloqueado, potencialmente de albumina.

[0003] UCB7665 (rozanolixizumab) é um receptor de Fc antineonatal humanizado para anticorpo monoclonal IgG (FcRn) que foi especificamente projetado para inibir ligação de IgG a FcRn sem inibir ligação de albumina a FcRn. UCB7665 está sendo desenvolvido como um inibidor de atividade de FcRn com o objetivo de reduzir a concentração de IgG patogênico em pacientes com doenças mediadas com autoanticorpo IgG.

[0004] Como entidades de doença individuais, afecções mediadas com autoanticorpo IgG são relativamente raras. O tratamento desses distúrbios permanece um problema clínico difícil, exigindo em muitas dessas afecções o uso a longo prazo de corticosteroides em alta dose por si só ou combinados com agentes citotóxicos. Essas abordagens terapêuticas não são eficazes em todos os pacientes e afecções e têm amplos efeitos imunossupressores causando considerável toxidade e morbidade

relacionada a tratamento.

[0005] Tratamentos com objetivo de reduzir a quantidade de circular o autoanticorpo de IgG, incluindo plasmaferese, imunoadsorção, ou imunoglobulina intravenosa de alta dose (IVIg), estão sendo usadas para terapia primária e secundária de doença autoimune, particularmente onde supressão imune à base de corticosteroide não é eficaz ou não tem mais eficácia. Acredita-se que a abordagem terapêutica desses tratamentos seja baseada em reduzir níveis de anticorpos patogênicos, que representa modalidades de tratamento racionais e eficazes de doenças autoimunes.

[0006] Miastenia grave é um distúrbio autoimune raro do sistema motor periférico no qual os anticorpos autoimunes se formam mais comumente contra receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChR) na junção neuromuscular (NMJ). O autoanticorpo nAChR confere a capacidade de acetilcolina de se ligar a receptores, e causa a destruição de receptores, tanto induzindo-se a célula muscular para eliminar os receptores através de endocitose como por fixação de complemento.

[0007] Uma segunda categoria de MG se deve a autoanticorpos contra a proteína específica muscular quinase (MuSK), um receptor de tirosina quinase que é necessário para a formação da NMJ. Anticorpos contra MuSK inibem a sinalização, resultando em uma diminuição na permeabilidade da NMJ, e os sintomas consequentes de MG. Em ambas as categorias, isso resulta em um padrão característico de força muscular progressivamente reduzida com uso muscular repetido e recuperação de força muscular após um período do resto. Foi constatado que anticorpos adicionais são associados a MG, mas ainda menos é conhecido acerca dos mesmos e os mesmos parecem menos comuns do que os dois principais.

[0008] A função essencial dos anticorpos autoimunes em mediar essa patologia é apoiada pela melhoria visto após a troca de plasma (PLEX). A troca de plasma que reduz níveis de IgG incluindo autoanticorpo de IgG patogênico é usada tanto em pacientes não responsivos a inibidores de acetilcolinesterase (AChE) ou tratamentos imunossupressores quanto em pacientes que experimentam crise miastênica (Gilhus e Verschuuren, 2015).

[0009] Embora a prognose de MG tenha melhorado de forma notória nas últimas décadas, com novas terapias que aprimoram drasticamente a sobrevivência, mortalidade significativa e ainda a morbidade permanece um problema. O tratamento de MG permanece um problema clínico difícil, necessitando do uso a longo prazo de corticosteroides em alta dose por si só ou combinados com agentes citotóxicos. Muitas das terapias consideradas eficazes em MG têm dados insuficientes para apoiar claramente seu uso, não são eficazes em todos os pacientes e afecções, e têm amplos efeitos imunossupressores causando toxidade considerável e morbidade relacionada a tratamento. Além disso, devido às oscilações naturais no curso da doença, muitos pacientes precisam de um tratamento eficaz para situações agudas exigindo tratamento urgente.

[0010] Tanto PLEX quanto IVIg atualmente são usados como o padrão de cuidado para aprimorar sintomas em situações que exigem tratamento intermitente crônico; no entanto, nem o tratamento é aprovado nos E.U.A para MG, e os procedimentos são frequentemente incômodos para os pacientes. Desse modo, existe uma necessidade médica significativa não atendida nessa população de paciente para um tratamento intermitente crônico eficaz com conveniência aumentada para pacientes com MG generalizada.

[0011] Permanece desse modo uma necessidade médica não atendida considerável para novas opções terapêuticas no tratamento de MG.

[0012] Consequentemente, agentes que bloqueiam ou reduzem a ligação de IgG a FcRn podem ser úteis no tratamento ou prevenção de MG pela remoção de IgG patogênico. Anticorpos antiFcRn foram descritos anteriormente nos documentos nº WO2009/131702, WO2007/087289, WO2006/118772, WO2014/019727, WO2015/071330, WO2015/167293 e WO2016/123521.

[0013] UCB7665 (rozanolixizumab) é um anticorpo monoclonal antiFcRn humanizado que foi especificamente projetado para inibir a ligação de IgG a FcRn sem inibir ligação de albumina a FcRn (descrita no presente documento e no documento nº WO2014/019727 e em Smith et al., 2019, MABS, 10, 111 a 1130). UCB7665 está sendo desenvolvido como um inibidor de atividade de FcRn com o

objetivo de reduzir a concentração de IgG patogênico em pacientes com MG. UCB7665 foi derivado de um anticorpo de rato com especificidade para FcRn humano manipulando-se geneticamente o anticorpo de rato em um formato IgG4P humanizado. O construto que codifica UCB7665 foi criado enxertando-se a região de determinação de complementaridade (CDRs) das regiões variáveis de cadeia pesada e leve de rato parenterais em um humano IgG4P e base genética de cadeia de kappa (SEQ ID NO:43 e SEQ ID NO:22 respectivamente).

[0014] Kiessling et al 2017, Sci. Transl. Med.9, pgs.1 a 12 descreve um tratamento clínico de fase 1 de escalonamento de dose única controlado com placebo, com ocultação de investigador e ocultação de indivíduo de rozanolixizumab em indivíduos saudáveis. O IgG de soro reduzido de anticorpo, sem nenhuma redução estatisticamente significativa em concentração de albumina de soro. Perfis de segurança, farmacocinética e farmacodinâmica, foram obtidos.

SUMÁRIO DA REVELAÇÃO

[0015] A presente revelação demonstra pela primeira vez, a eficácia terapêutica de anticorpos antiFcRn no tratamento de MG em humanos e fornece regimes de dosagem adequados para tal tratamento.

[0016] Desse modo, em um aspecto, é fornecido um método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, sendo que o método compreende administrar ao humano pelo menos 3 doses de um anticorpo antiFcRn ou um fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que cada dose é independentemente selecionada dentre 4 mg/kg, 7 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg e 20 mg/kg.

[0017] Em um aspecto, dosagem de unidade fixa é usada, opcionalmente através de camadas de peso corporal. Em um exemplo, uma dose de unidade fixa equivalente a aproximadamente 7 mg/kg é usada. Consequentemente, em um exemplo, a presente invenção também fornece um método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, sendo que o método compreende administrar ao humano pelo menos 3 doses, preferencialmente, pelo menos 6 doses de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do

mesmo em que, para um peso corporal de menos do que 50 kg, a dose é 280 mg, para um peso corporal igual ou maior do que 50 kg, mas menor do que 70 kg, a dose é 420 mg, para um peso corporal igual ou maior do que 70 kg, mas menor do que 100 kg, a dose é 560 mg e, para um peso corporal igual ou maior do que 100 kg, a dose é 840 mg.

[0018] Em um exemplo, uma dose de unidade fixa equivalente a aproximadamente 10 mg/kg é usada. Consequentemente, em um exemplo, a presente invenção também fornece um método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, sendo que o método compreende administrar ao humano pelo menos 3 doses, preferencialmente, pelo menos 6 doses de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que, para um peso corporal de menos do que 50 kg, a dose é 420 mg, para um peso corporal igual ou maior do que 50 kg, mas menor do que 70 kg, a dose é 560 mg, para um peso corporal igual ou maior do que 70 kg, mas menor do que 100 kg, a dose é 840 mg e para um peso corporal igual ou maior do que 100 kg, a dose é 1.120 mg.

[0019] Em um exemplo, o anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo compreende:

a. uma cadeia pesada ou fragmento de cadeia pesada que tem uma região variável, em que a dita região variável compreende três CDRs que têm as sequências dadas em SEQ ID NO: 1 para CDR H1, SEQ ID NO: 2 para CDR H2 e SEQ ID NO: 3 para CDR H3, e

b. uma cadeia leve ou fragmento de cadeia leve que tem uma região variável, em que a dita região variável compreende três CDRs que têm as sequências dadas na SEQ ID NO: 4 para CDR L1, SEQ ID NO: 5 para CDR L2 e SEQ ID NO: 6 para CDR L3.

[0020] Em outro aspecto, é fornecido um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo para uso no tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, que compreende administrar ao humano pelo menos 3 doses de um anticorpo antiFcRn ou um fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que cada dose é independentemente selecionada dentre 4

mg/kg, 7 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg e 20 mg/kg.

[0021] Em outro aspecto é fornecido um anticorpo antiFcRn ou um fragmento de ligação a antígeno do mesmo que compreende:

uma cadeia pesada ou fragmento de cadeia pesada que tem uma região variável, em que a dita região variável compreende três CDRs que têm as sequências dadas em SEQ ID NO: 1 para CDR H1, SEQ ID NO: 2 para CDR H2 e SEQ ID NO: 3 para CDR H3, e

uma cadeia leve ou fragmento de cadeia leve que tem uma região variável, em que a dita região variável compreende três CDRs que têm as sequências dadas na SEQ ID NO: 4 para CDR L1, SEQ ID NO: 5 para CDR L2 e SEQ ID NO: 6 para CDR L3,

para uso no tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo que compreende administrar ao humano pelo menos 3 doses de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que cada dose é independentemente selecionado dentre 4 mg/kg, 7 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg e 20 mg/kg.

[0022] Em outro aspecto é fornecido o uso de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação do mesmo que compreende:

i. uma cadeia pesada ou fragmento de cadeia pesada que tem uma região variável, em que a dita região variável compreende três CDRs que têm as sequências dadas em SEQ ID NO: 1 para CDR H1, SEQ ID NO: 2 para CDR H2 e SEQ ID NO: 3 para CDR H3, e

ii. uma cadeia leve ou fragmento de cadeia leve da mesma que tem uma região variável que compreende três CDRs que têm as sequências dadas na SEQ ID NO: 4 para CDR L1, SEQ ID NO: 5 para CDR L2 e SEQ ID NO: 6 para CDR L3,

para a fabricação de um medicamento para o tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) que compreende administrar ao humano pelo menos 3 doses de um anticorpo antiFcRn ou FcRn fragmento de ligação

do mesmo em que cada dose é independentemente selecionada dentre 4 mg/kg, 7 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg e 20 mg/kg.

[0023] De modo importante, os anticorpos da presente invenção têm capacidade de se ligar a FcRn humano tanto em pH 6 quanto em pH 7,4 com afinidade de ligação alta e comparável. De modo vantajoso, portanto, os anticorpos têm capacidade de continuar a se ligar a FcRn, mesmo dentro do endossoma, maximizando assim o bloqueio de ligação de FcRn a IgG.

[0024] Em um exemplo, o anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação do mesmo para uso na presente invenção liga um epítopo de FcRn humano que compreende pelo menos um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em resíduos V105, P106, T107, A108 e K109 da SEQ ID NO:94 e pelo menos um resíduo, por exemplo, pelo menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 resíduos selecionados a partir do grupo que consiste em P100, E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 e E133 da SEQ ID NO:94

[0025] Em uma modalidade, os anticorpos ou fragmentos de ligação de acordo com a presente revelação compreendem uma cadeia pesada ou fragmento de cadeia pesada que tem uma região variável, por exemplo, que compreende um, dois ou três CDRs independentemente selecionados dentre a SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 e SEQ ID NO: 3, em particular, em que CDR H1 é SEQ ID NO: 1, CDR H2 é SEQ ID NO: 2 e CDR H3 é SEQ ID NO: 3.

[0026] Em uma modalidade os anticorpos ou fragmentos de ligação de acordo com a presente revelação compreendem uma cadeia leve ou fragmento de cadeia leve que tem uma região variável, por exemplo, que compreende uma, duas ou três CDRs independentemente selecionados dentre SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 6, em particular, em que CDR L1 é SEQ ID NO: 4, CDR L2 é SEQ ID NO: 5 e CDR L3 é SEQ ID NO: 6.

[0027] Em uma modalidade os anticorpos ou fragmentos de ligação de acordo com a presente revelação compreendem sequências de CDR da SEQ ID NOs: 1 a 6, por exemplo, em que CDR H1 é SEQ ID NO: 1, CDR H2 é SEQ ID NO: 2, CDR H3 é SEQ ID NO: 3, CDR L1 é SEQ ID NO: 4, CDR L2 é SEQ ID NO: 5 e CDR L3 é SEQ ID NO:

6.

[0028] A presente revelação também se refere a composições farmacêuticas que compreendem os ditos anticorpos e fragmentos.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[0029] A Figura 1 mostra determinadas sequências de aminoácidos e polinucleotídeos.

[0030] A Figura 2 projeto de estudo MG0002 (SubQ; UCB7665)

[0031] A Figura 3 Mudança da linha de base em pontuação de MG-ADL

[0032] A Figura 4 Mudança da linha de base em QMG, Compósito de MG, pontuações de MG-ADL, concentrações de IgG e anticorpo antiAChR (rozanolixizumab 7 mg/kg/ rozanolixizumab 7 mg/kg)

[0033] A Figura 5 Forma de teste de Miastenia grave quantitativo

[0034] A Figura 6 Pontuação de Compósito de Miastenia grave

[0035] A Figura 7 Atividades de Miastenia grave de Pontuação de Vivência Diária (MG-ADL)

DETALHES DA REVELAÇÃO

[0036] Miastenia grave (MG) é uma doença autoimune debilitante e potencialmente fatal caracterizada por autoanticorpos direcionada contra epítopos da membrana muscular pós-simpática, incluindo o receptor de acetilcolina nicotínico (AChR) e o receptor de tirosina quinase (MuSK) específico de músculo, e destruição mediada com complemento da membrana pós-juncional. Manifestações clínicas incluem fraqueza oscilante de músculos oculares, bulbares, respiratórios e de membros. Terapias atuais a longo prazo para MG incluem timectomia (THX), inibidores de colinesterase, e agentes imunossuppressivos ou imunomodulatórios. Exacerbações são tipicamente tratadas com terapias, tais como imunoglobulinas intravenosas ou subcutâneas (IVIg ou SCIg) e troca de plasma (PLEX).

[0037] Na maioria dos pacientes, os primeiros músculos a serem afetados são aqueles que controlam os movimentos do olho e pálpebras. Em alguns pacientes, a Miastenia grave somente sempre envolve os músculos oculares (Miastenia grave ocular) enquanto na maioria, há também o envolvimento de outros músculos

(Miastenia grave generalizada). Miastenia grave generalizada conforme usado no presente documento, portanto, se refere a miastenia grave que afeta outros músculos além de somente músculos oculares.

[0038] Em um aspecto, a presente invenção fornece um método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, sendo que o método compreende administrar ao humano pelo menos 6 doses de um anticorpo antiFcRn ou um fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que cada dose é independentemente selecionada dentre 4 mg/kg, 7 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg e 20 mg/kg, preferencialmente 7 mg/kg ou 10 mg/kg.

[0039] Em um exemplo, dosagem de unidade fixa pode ser usada, opcionalmente com uso de camadas baseadas em peso conforme descrito no presente documento abaixo.

[0040] Qualquer anticorpo antiFcRn adequado ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo pode ser usado na presente invenção, incluindo aqueles descritos no presente documento.

[0041] Em um exemplo, o anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo compreende:

a. uma cadeia pesada ou fragmento de cadeia pesada que tem uma região variável, em que a dita região variável compreende três CDRs que têm as sequências dadas em SEQ ID NO: 1 para CDR H1, SEQ ID NO: 2 para CDR H2 e SEQ ID NO: 3 para CDR H3, e

b. uma cadeia leve ou fragmento de cadeia leve que tem uma região variável, em que a dita região variável compreende três CDRs que têm as sequências dadas na SEQ ID NO: 4 para CDR L1, SEQ ID NO: 5 para CDR L2 e SEQ ID NO: 6 para CDR L3.

[0042] FcRn conforme empregado no presente documento se refere ao complexo não covalente entre a cadeia de receptor alfa de IgG humano receptor, também conhecido como o receptor de Fc neonatal, cuja sequência de aminoácidos está em UniProt sob o número P55899 em conjunto com a microglobulina β2 (β2M), cuja sequência de aminoácidos está em UniProt sob o número P61769.

[0043] A molécula de anticorpo conforme empregado no presente documento se refere a um anticorpo ou fragmento de ligação a antígeno. O termo ‘anticorpo’ conforme usado no presente documento se refere, em geral, a anticorpos intactos (inteiros), isto é, que compreendem os elementos de duas cadeias pesadas e cadeias leves de comprimento total. O anticorpo pode compreender também domínios de ligação adicionais, por exemplo, como pela molécula DVD-Ig conforme revelado no documento nº WO 2007/024715, ou o denominado $(FabFv)_2Fc$ descrito no documento nº WO2011/030107. Desse modo anticorpo conforme empregado no presente documento inclui anticorpos de comprimento total bi, tri ou tetravalentes. Conforme descrito no presente documento acima, o anticorpo para uso no método compreende uma molécula de anticorpo completa que têm cadeias pesadas e leves de comprimento total. Alternativamente, o método emprega um fragmento de ligação a antígeno. Fragmentos de ligação a antígeno podem incluir uma estrutura de fragmento de anticorpo convencional, por exemplo, um fragmento Fab, Fab modificado, Fab′, ou um fragmento $F(ab')_2$. Um anticorpo pode ser clivado em fragmentos por enzimas, tais como, por exemplo, papaína (para produzir dois fragmentos Fab e um fragmentos Fc) e pepsina (para produzir um fragmento $F(ab')_2$ e um fragmento pFc’). O fragmento de ligação a antígeno também pode compreender uma estrutura não convencional (isto é, compreendem porções de ligação a antígeno de um anticorpo em um formato alternativo, que incluem polipeptídeos que simulam a atividade de fragmento de anticorpo retendo-se a capacidade de ligação a antígeno). Em relação a isso, o fragmento de ligação a antígeno inclui anticorpos de domínio ou nanocorpos, por exemplo, estruturas baseadas em VH, VL, V_{HH}, e V_{NAR}, anticorpos de cadeia única (scFv), fusão de pepticorpo ou peptídeo-Fc, assim como moléculas do tipo anticorpo di ou multimérico como dia-, tria- e tetra-corpos, ou minicorpos (miniAbs) que compreendem diferentes formatos que consistem em scFvs vinculados a domínios de oligomerização. Exemplos de fragmentos de ligação a antígeno multiespecíficos incluem fragmentos Fab-Fv, Fab-dsFv, Fab-Fv-Fv, Fab-scFv-scFv, Fab-Fv-Fc e Fab-dsFv-PEG descritos na Publicação de Pedido de Patente Internacional ºn WO2009040562, WO2010035012, WO2011/08609, WO2011/030107 e

WO2011/061492, respectivamente, dos quais todos são incorporados por meio deste a título de referência em relação a sua discussão de porções de ligação a antígeno. Um exemplo adicional de fragmentos de ligação a antígeno multiespecíficos inclui fragmentos V_{HH} vinculados em série. Um fragmento de ligação a antígeno alternativo compreende um Fab vinculado a dois scFvs ou dsscFvs, cada scFv ou dsscFv se ligado ao mesmo alvo ou a um alvo diferente (por exemplo, um scFv ou dsscFv que se liga a um alvo terapêutico e um scFv ou dsscFv que aumenta a meia-vida ligando-se, por exemplo, a albumina). Tais fragmentos de anticorpo são descritos na Publicação de Pedido de Patente Internacional nº WO2015/197772, que é incorporada por meio deste a título de referência em sua totalidade e particularmente em relação à discussão de fragmentos de anticorpo. Anticorpo fragmentos e métodos de produção dos mesmos são conhecidos na técnica, consultar, por exemplo, Verma et al., 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165-181; Adair e Lawson, 2005. Therapeutic anticorpos. Drug Design Reviews—Online 2(3):209 a 217. Exemplos de anticorpos multiespecíficos ou fragmentos de ligação a antígeno dos mesmos, que também são contemplados para uso no contexto da revelação, incluem anticorpos bi, tri ou tetravalentes, Bis-scFv, diacorpos, triacorpos, tetracorpos, bicorpos e tricorpos (consultar, por exemplo, Holliger e Hudson, 2005, Nature Biotech 23(9): 1126-1136; Schoonjans et al. 2001, Biomolecular Engineering, 17(6), 193-202).

[0044] A revelação no presente documento relacionada a anticorpos, particularmente em relação a epítopos, afinidade de ligação e especificidade, e atividade, também é aplicável a fragmentos de anticorpo e moléculas do tipo anticorpo. Será verificado que fragmentos de anticorpo também podem ser caracterizados como monoclonais, quiméricos, humanizados, totalmente humano, multiespecíficos, biespecíficos etc., e que a discussão desses termos abaixo também se refere a fragmentos de ligação a antígeno.

[0045] Os anticorpos e fragmentos de ligação a antígeno acima são descritos para propósitos de referência e exemplo somente e do não limitam o escopo da invenção.

[0046] Em uma modalidade, o anticorpo ou fragmento de ligação a antígeno compreende um domínio de ligação. Um domínio de ligação compreenderá, em geral,

6 CDRs, três de uma cadeia pesada e três de uma cadeia leve. Em uma modalidade, as CDRs estão em um arcabouço e formam em conjunto uma região variável. Desse modo, em uma modalidade um anticorpo ou fragmento de ligação a antígeno compreende um domínio de ligação específico para antígeno que compreende uma região variável de cadeia leve e uma região variável de cadeia pesada.

[0047] Será verificado que uma ou mais (por exemplo, 1, 2, 3 ou 4) substituições, adições e/ou deleções de aminoácido podem ser realizadas às CDRs ou outras sequências (por exemplo, domínios variáveis) fornecidos pela presente invenção sem alterar significativamente a capacidade do anticorpo de se ligar a FcRn. O efeito de quaisquer substituições, adições e/ou deleções de aminoácido pode ser prontamente testado por um elemento versado na técnica, por exemplo, com uso dos métodos descritos no documento nº WO2014/019727 para determinar ligação de bloqueio de FcRn.

[0048] Em um exemplo, uma ou mais (por exemplo, 1, 2, 3 ou 4) substituições, adições e/ou deleções de aminoácido podem ser realizadas à região de arcabouço empregada no anticorpo ou fragmento fornecido pela presente invenção e em que a afinidade de ligação to FcRn é retida ou aumentada.

[0049] Os resíduos in anticorpo domínios variáveis são convencionalmente numerados de acordo com um sistema concebido por Kabat et al. Esse sistema é apresentado em Kabat et al., 1987, em Sequences of Proteins of Immunological Interest, Departamento Americano de Saúde e Serviços Humanos, NIH, E.U.A (doravante “Kabat et al. (supra)”). Esse sistema de numeração é usado no presente relatório descritivo exceto onde indicado de outro modo.

[0050] As designações de resíduo de Kabat nem sempre correspondem diretamente com a numeração linear dos resíduos de aminoácido. A sequência de aminoácidos linear real pode conter menos ou mais aminoácidos do que na numeração de Kabat estrita correspondente a um encurtamento de, ou inserção em um componente estrutural, seja arcabouço ou região de determinação de complementaridade (CDR), da estrutura de domínio variável básica. A numeração de Kabat correta de resíduos pode ser determinada para um dado anticorpo pelo

alinhamento de resíduos de homologia na sequência do anticorpo com uma sequência numerada de Kabat "padrão".

[0051] As CDRs do domínio variável de cadeia pesada são localizadas em resíduos 31 a 35 (CDR-H1), resíduos 50 a 65 (CDR-H2) e resíduos 95 a 102 (CDR-H3) de acordo com o sistema de numeração de Kabat. No entanto, de acordo com Chothia (Chothia, C. e Lesk, A.M. J. Mol. Biol., 196, 901-917 (1987)), o ciclo equivalente a CDR-H1 se estende do resíduo 26 ao resíduo 32. Desse modo, a menos que indicado de outro modo 'CDR-H1' conforme empregado no presente documento é se destina a referir a resíduos 26 a 35, conforme descrito por uma combinação do sistema de numeração de Kabat e definição de ciclo topológico de Chothia.

[0052] As CDRs do domínio variável de cadeia leve são localizadas em resíduos 24 a 34 (CDR-L1), resíduos 50 a 56 (CDR-L2) e resíduos 89 a 97 (CDR-L3) de acordo com o sistema de numeração de Kabat.

[0053] Anticorpos e fragmentos de ligação a antígeno da presente revelação bloqueiam FcRn e podem assim prevenir seu funcionamento na reciclagem de IgG. Bloqueio conforme empregado no presente documento se refere a bloquear fisicamente, tal como oclusão do receptor, mas também incluirá onde o anticorpo ou fragmentos se liga a um epítopo que causa, por exemplo, uma mudança conformacional que significa que o ligante natural ao receptor não se liga mais. Moléculas de anticorpo da presente invenção se ligam a FcRn e diminuem ou previnem assim (por exemplo, inibem) ligação de FcRn a uma região constante de IgG.

[0054] Em uma modalidade, o anticorpo ou fragmento de ligação a antígeno se liga a FcRn competitivamente em relação a IgG.

[0055] Em um exemplo o anticorpo ou fragmento de ligação a antígeno funciona como um inibidor de FcRn humano competitivo que se liga a IgG humano. Em um exemplo o anticorpo ou fragmento de ligação a antígeno se liga ao sítio de ligação de IgG em FcRn. Em um exemplo, o anticorpo ou fragmento de ligação a antígeno não se liga a β2M.

[0056] Anticorpos para uso na presente revelação podem ser obtidos com uso de

qualquer método conhecido adequado na técnica. O polipeptídeo/proteína de FcRn que inclui proteínas de fusão, células que expressam (de modo recombinante ou natural) o polipeptídeo (tal como células T ativadas) podem ser usadas para produzir anticorpos que reconhecem especificamente FcRn. O polipeptídeo pode ser O polipeptídeo “maduro” ou um fragmento biologicamente ativo ou derivado do mesmo. A proteína humana é registrada em Swiss-Prot sob o número P55899. O domínio extracelular de cadeia alfa de FcRn humano é fornecido na SEQ ID NO:94. A sequência de β2M é fornecida na SEQ ID NO:95.

[0057] Em uma modalidade, o antígeno é uma forma mutante de FcRn que é manipulada geneticamente ao presente FcRn na superfície de uma célula, de modo que haja pouco ou nenhum processamento dinâmico em que o FcRn é internalizado na célula, por exemplo, isso pode ser alcançado realizando-se uma mutação na cauda citoplásmica da cadeia alfa FcRn, em que dileucina é mutada para dialanina conforme descrito em Ober et al 2001 Int. Immunol. 13, 1551 a 1559.

[0058] Polipeptídeos, para uso para imunizar um hospedeiro, pode ser preparado por processos conhecidos na técnica a partir de células hospedeiras geneticamente manipuladas que compreendem sistemas de expressão ou os mesmos podem ser recuperar a partir de fontes biológicas naturais. No presente pedido, o termo “polipeptídeos” inclui peptídeos, polipeptídeos e proteínas. Os mesmos são usados de modo intercambiável a menos que especificado de outro modo. O polipeptídeo de FcRn pode, em alguns casos, ser parte de uma proteína maior, tal como uma proteína de fusão, por exemplo, fundida a uma etiqueta de afinidade ou similar.

[0059] Os anticorpos gerados contra o polipeptídeo de FcRn podem ser obtidos, em que a imunização de um animal é necessária, administrando-se os polipeptídeos a um animal, preferencialmente, um animal não humano, com o uso de protocolos bem conhecidos e de rotina, consultar, por exemplo, Handbook of Experimental Immunology, D. M. Weir (ed.), volume 4, Blackwell Scientific Publishers, Oxford, Inglaterra, 1986). Muitos animais de sangue quente, como coelhos, camundongos, ratos, ovelhas, vacas, camelos ou porcos podem ser imunizados. Entretanto, os camundongos, coelhos, porcos e ratos são geralmente mais adequados.

[0060] Os anticorpos monoclonais podem ser preparados por qualquer método conhecido na técnica como a técnica de hibridôma (Kohler e Milstein, 1975, Nature, 256:495 a 497), a técnica de triôma, a técnica de hibridoma de célula B humana (Kozbor et al., 1983, Immunology Today, 4:72) e a técnica de hibridoma de EBV (Cole et al., Monoclonal Anticorpos and Cancer Therapy, páginas 77 a 96, Alan R Liss, Inc., 1985).

[0061] Os anticorpos para uso na invenção também podem ser gerados com o uso de métodos de anticorpo de linfócito único através da clonagem e expressão de cDNAs de região variável de imunoglobulina gerados a partir de linfócitos únicos selecionados para a produção de anticorpos específicos através, por exemplo, dos métodos descritos por Babcook, J. et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93(15):7843 a 7848l; documentos nº WO92/02551; WO2004/051268 e Pedido de Patente Internacional nº WO2004/106377.

[0062] A triagem para anticorpos pode ser realizada com uso de ensaios para medir a ligação a FcRn humano e/ou ensaios para medir a capacidade de bloquear ligação de IgG ao receptor. Um exemplo de um ensaio de ligação é um ELISA, em particular, com uso de uma proteína de fusão de FcRn humano e Fc humano, que é imobilizada em placas, e que emprega um anticorpo secundário para detectar anticorpo antiFcRn ligado à proteína de fusão. Exemplos de ensaios antagonísticos e de bloqueio adequados são conhecidos na técnica e descritos no documento nº WO2014/019727.

[0063] Específico(a)(s) conforme empregado no presente documento, se destina a referir a um anticorpo que reconhece somente o antígeno ao qual o mesmo é específico ou um anticorpo que tem afinidade de ligação significativamente maior ao antígeno ao qual o mesmo é específico em comparação à ligação a antígenos aos quais o mesmo é não específico, por exemplo, afinidade de ligação pelo menos 5, 6, 7, 8, 9, 10 vezes maior. A afinidade de ligação pode ser medida por técnicas, tais como BIAcore, conforme descrito no presente documento e no documento nº WO2014/019727. Em um exemplo o anticorpo da presente invenção não se liga a microglobulina β2 (β2M). Em um exemplo o anticorpo da presente invenção se liga a

FcRn cinomolgo. Em um exemplo o anticorpo da presente invenção não se liga a FcRn de rato e camundongo.

[0064] As sequências de aminoácidos e as sequências de polinucleotídeos de determinados anticorpos de acordo com a presente revelação são fornecidas nas Figuras.

[0065] Outros anticorpos úteis na presente invenção são descritos nos documentos nº WO2009/131702, WO2007/087289, WO2006/118772, WO2015/071330, WO2015/167293 e WO2016/123521 e são incorporados ao presente documento a título de referência. Exemplos também incluem M281 da Momenta Pharmaceuticals e SYNT0001 da Syntimmune.

[0066] Em uma modalidade, o anticorpo ou fragmentos de acordo com a revelação são humanizados.

[0067] Como usado no presente documento, o termo "molécula de anticorpo humanizada" se refere a uma molécula de anticorpo em que a cadeia pesada e/ou leve contém uma ou mais CDRs (incluindo, se for desejado, uma ou mais CDRs modificadas) de um anticorpo doador (por exemplo, um anticorpo não humano tal como anticorpo monoclonal de murina) enxertado em um arcabouço de região variável de cadeia pesada e/ou leve de um anticorpo aceitador (por exemplo, um anticorpo humano). Para uma revisão, consultar Vaughan et al, Nature Biotechnology, 16, 535 a 539, 1998. Em uma modalidade, em vez de a CDR inteira ser transferida, apenas um ou mais dentre os resíduos determinantes de especificidade de qualquer um dos CDRs descrito no presente documento acima são transferidos para o arcabouço de anticorpo humano (consultar, por exemplo, Kashmiri et al., 2005, Methods, 36, 25 a 34). Em uma modalidade, apenas os resíduos determinantes de especificidade de uma ou mais dentre as CDRs descritas no presente documento acima são transferidos para o arcabouço de anticorpo humano. Em outra modalidade, apenas os resíduos determinantes de especificidade de cada uma das CDRs descritas no presente documento acima são transferidos para o arcabouço de anticorpo humano.

[0068] Quando as CDRs ou resíduos determinantes de especificidade são enxertados, qualquer sequência de arcabouço de região variável aceitadora adequada

pode ser usada considerando-se a classe/tipo do anticorpo doador do qual as CDRs são derivadas, incluindo regiões de arcabouço de camundongo, primata e humano.

[0069] Adequadamente, o anticorpo humanizado de acordo com a presente invenção tem um domínio variável que compreende regiões de arcabouço aceitadoras humanas assim como uma ou mais das CDRs fornecidas especificamente no presente documento. Desse modo, é fornecido em uma modalidade o bloqueio de anticorpo humanizado que se liga a FcRn humano em que o domínio variável compreende regiões de arcabouço aceitadoras humanas e CDRs doadoras não humanas.

[0070] Os exemplos de arcabouços humanos que podem ser usados na presente invenção são KOL, NEWM, REI, EU, TUR, TEI, LAY e POM (Kabat et al., supra). Por exemplo, KOL e NEWM podem ser usados para a cadeia pesada, REI pode ser usado para a cadeia leve e EU, LAY e POM podem ser usados tanto para a cadeia pesada quanto para a cadeia leve. Alternativamente, sequências de linhas germinativas humanas podem ser usadas; as mesmas são disponíveis em: http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/

[0071] Em um anticorpo humanizado da presente invenção, as cadeias pesadas e leves aceitadoras não precisam ser necessariamente derivadas do mesmo anticorpo e, se for desejado, podem compreender cadeias compósitas que têm regiões de arcabouço derivadas de diferentes cadeias.

[0072] Tal região adequada de arcabouço para a cadeia pesada do anticorpo humanizado da presente invenção é derivada da sequência VH3 de subgrupo humano 1-3 3-07 em conjunto com JH4 (SEQ ID NO: 56).

[0073] Consequentemente, em um exemplo é fornecido um anticorpo humanizado que compreende a sequência dada na SEQ ID NO: 1 para CDR-H1, a sequência dada na SEQ ID NO: 2 para CDR-H2 e a sequência dada na SEQ ID NO: 3 para CDRH3, em que a região de arcabouço de cadeia pesada é derivada da sequência VH3 de subgrupo humana 1-3 3-07 em conjunto com JH4.

[0074] A sequência de humano JH4 é conforme a seguir: (YFDY)WGQGTLVTVS (Seq ID No: 70). O motivo YFDY é parte de CDR-H3 e não é parte do arcabouço 4 (Ravetch, JV. et al., 1981, Cell, 27, 583-591).

[0075] Em um exemplo, o domínio variável de cadeia pesada do anticorpo compreende a sequência dada na SEQ ID NO: 29.

[0076] Uma região adequada de arcabouço para a cadeia leve do anticorpo humanizado da presente invenção é derivada da sequência VK1 de subgrupo de linha germinativa humana 2-1-(1) A30 em conjunto com JK2 (SEQ ID NO: 54).

[0077] Consequentemente, em um exemplo é fornecido um anticorpo humanizado que compreende a sequência dada na SEQ ID NO: 4 para CDR-L1, a sequência dada na SEQ ID NO: 5 para CDR-L2 e a sequência dada na SEQ ID NO: 6 para CDRL3, em que a região de arcabouço de cadeia leve é derivada da sequência VK1 de subgrupo humano 2-1-(1) A30 em conjunto com JK2.

[0078] A sequência JK2 é conforme a seguir: (YT)FGQGTKLEIK (Seq ID No: 71). O motivo YT é parte de CDR-L3 e não é parte do arcabouço 4 (Hieter, PA., et al., 1982, J. Biol. Chem., 257, 1516-1522).

[0079] Em um exemplo, o domínio variável de cadeia leve do anticorpo compreende a sequência dada na SEQ ID NO: 15.

[0080] Em um anticorpo humanizado da presente invenção, as regiões de arcabouço não precisam ter exatamente a mesma sequência que aquelas do anticorpo aceitador. Por exemplo, resíduos incomuns podem ser alterados para resíduos com ocorrência mais frequente para tal classe ou tipo de cadeia aceitadora. Alternativamente, os resíduos selecionados nas regiões de arcabouço aceitadoras podem ser alterados de modo que correspondam ao resíduo encontrado na mesma posição no anticorpo doador (consultar, Reichmann et al., 1998, Nature, 332, 323 a 324). Tais alterações devem ser mantidas ao mínimo necessário para recuperar a afinidade do anticorpo doador. Um protocolo para selecionar resíduos nas regiões de arcabouço aceitadoras que podem precisar ser alterados é apresentado no documento WO91/09967.

[0081] Desse modo em uma modalidade 1, 2, 3, 4, ou 5 resíduos no arcabouço são substituídos por um resíduo de aminoácido alternativo.

[0082] Consequentemente, em um exemplo é fornecido um anticorpo humanizado, em que pelo menos os resíduos em cada uma das posições 3, 24, 76,

93 e 94 do domínio variável da cadeia pesada (numeração de Kabat) são resíduos doadores, consultar, por exemplo, a sequência dada na SEQ ID NO: 29.

[0083] Em uma modalidade, o resíduo 3 do domínio variável de cadeia pesada é substituído por um aminoácido alternativo, por exemplo, glutamina.

[0084] Em uma modalidade, o resíduo 24 do domínio variável de cadeia pesada é substituído por um aminoácido alternativo, por exemplo, alanina.

[0085] Em uma modalidade, o resíduo 76 do domínio variável de cadeia pesada é substituído por um aminoácido alternativo, por exemplo, asparagina.

[0086] Em uma modalidade, o resíduo 93 da cadeia pesada é substituído por um aminoácido alternativo, por exemplo, alanina.

[0087] Em uma modalidade, o resíduo 94 da cadeia pesada é substituído por um aminoácido alternativo, por exemplo, arginina.

[0088] Em uma modalidade, o resíduo 3 é glutamina, resíduo 24 é alanina, resíduo 76 é aspargina, o resíduo 93 é alanina e resíduo 94 é arginina na região variável de cadeia pesada humanizada de acordo com a presente revelação.

[0089] Consequentemente, em um exemplo é fornecido um anticorpo humanizado, em que pelo menos os resíduos em cada uma das posições 36, 37 e 58 do domínio variável da cadeia leve (numeração de Kabat) são resíduos doadores, consultar, por exemplo, a sequência dada na SEQ ID NO: 15

[0090] Em uma modalidade, o resíduo 36 do domínio variável de cadeia leve é substituído por um aminoácido alternativo, por exemplo, tirosina.

[0091] Em uma modalidade, o resíduo 37 do domínio variável de cadeia leve é substituído por um aminoácido alternativo, por exemplo, glutamina.

[0092] Em uma modalidade, o resíduo 58 do domínio variável de cadeia leve é substituído por um aminoácido alternativo, por exemplo, valina.

[0093] Em uma modalidade, o resíduo 36 é tirosina, resíduo 37 é glutamina e resíduo 58 é valina, na região variável de cadeia pesada humanizada de acordo com a presente revelação.

[0094] Em uma modalidade, a revelação fornece um anticorpo sequência que é 80% similar ou idêntico a uma sequência revelada no presente documento, por

exemplo, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98% ou 99% em parte ou toda a sequência relevante, por exemplo, uma sequência de domínio variável, uma sequência de CDR ou uma sequência de domínio variável, excluindo as CDRs. Em uma modalidade, a sequência relevante é SEQ ID NO: 15. Em uma modalidade a sequência relevante é SEQ ID NO: 29.

[0095] Em uma modalidade, a presente invenção fornece uma molécula de anticorpo que se liga a FcRn humano que compreende uma cadeia pesada, em que o domínio variável da cadeia pesada compreende uma sequência que tem pelo menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade ou similaridade à sequência dada na SEQ ID NO:29.

[0096] Em uma modalidade, a presente invenção fornece uma molécula de anticorpo que se liga a FcRn humano que compreende uma cadeia leve, em que o domínio variável da cadeia leve compreende uma sequência que tem pelo menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade ou similaridade à sequência dada na SEQ ID NO:15.

[0097] Em uma modalidade, a presente invenção fornece uma molécula de anticorpo que se liga a FcRn humano em que o anticorpo tem um domínio variável de cadeia pesada que é pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98% ou 99% similar ou idêntico à sequência dada na SEQ ID NO:29 mas em que a molécula de anticorpo tem a sequência dada na SEQ ID NO: 1 para CDR-H1, a sequência dada na SEQ ID NO: 2 para CDR-H2 e a sequência dada na SEQ ID NO: 3 para CDR-H3.

[0098] Em uma modalidade, a presente invenção fornece uma molécula de anticorpo que se liga a FcRn humano em que o anticorpo tem um domínio variável de cadeia leve que é pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98% ou 99% similar ou idêntico à sequência dada na SEQ ID NO:15 mas em que a molécula de anticorpo tem a sequência dada na SEQ ID NO: 4 para CDR-L1, a sequência dada na SEQ ID NO: 5 para CDR-L2 e a sequência dada na SEQ ID NO:6 para CDR-L3.

[0099] Em uma modalidade, a presente invenção fornece uma molécula de anticorpo que se liga a FcRn humano em que o anticorpo tem um domínio variável de

cadeia pesada que é pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98% ou 99% similar ou idêntico à sequência dada na SEQ ID NO:29 e um domínio variável de cadeia leve que é pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98% ou 99% similar ou idêntico à sequência dada na SEQ ID NO:15 mas em que a molécula de anticorpo tem a sequência dada na SEQ ID NO: 1 para CDR-H1, a sequência dada na SEQ ID NO: 2 para CDR-H2, a sequência dada na SEQ ID NO: 3 para CDR-H3, a sequência dada na SEQ ID NO: 4 para CDR-L1, a sequência dada na SEQ ID NO: 5 para CDR-L2 e a sequência dada na SEQ ID NO:6 para CDR-L3.

[0100] "Identidade", conforme usado no presente documento, indica que, em qualquer posição particular nas sequências alinhadas, o resíduo de aminoácido é idêntico entre as sequências. "Similaridade", conforme usado no presente documento, indica que, em qualquer posição particular nas sequências alinhadas, o resíduo de aminoácido é de um tipo similar entre as sequências. Por exemplo, leucina pode ser substituída por isoleucina ou valina. Outros aminoácidos que podem ser frequentemente substituídos uns pelos outros incluem, porém, sem limitação:

- fenilalanina, tirosina e triptofano (aminoácidos que têm cadeias laterais aromáticas);
- lisina, arginina e histidina (aminoácidos que têm cadeias laterais básicas);
- aspartato e glutamato (aminoácidos que têm cadeias laterais ácidas);
- asparagina e glutamina (aminoácidos que têm cadeias laterais de amida); e
- cisteína e metionina (aminoácidos que têm cadeias laterais que contêm enxofre). Graus de identidade e similaridade podem ser prontamente calculados (Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, Nova Iorque, 1988; Biocomputing. Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, Nova Iorque, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part 1, Griffin, A.M., and Griffin, H.G., eds., Humana Press, Nova Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987, Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M

Stockton Press, Nova Iorque, 1991, the BLAST™ software disponível junto à NCBI (Altschul, S.F. et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403 a 410; Gish, W. & States, D.J. 1993, Nature Genet. 3:266-272. Madden, T.L. et al., 1996, Meth. Enzymol. 266:131 a 141; Altschul, S.F. et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389 a 3402; Zhang, J. & Madden, T.L. 1997, Genome Res. 7:649-656,).

[0101] As moléculas de anticorpo da presente invenção podem compreender uma molécula de anticorpo completa que tem cadeias pesadas e leves de comprimento total ou um fragmento das mesmas e pode ser, porém, sem limitação Fab, Fab modificado, Fab', Fab' modificado, $F(ab')_2$, Fv, anticorpos de domínio únicos (por exemplo, VH ou VL ou VHH), scFv, anticorpos bi, tri ou tetravalentes, Bis-scFv, diacorpos, triacorpos, tetracorpos e fragmentos de ligação a epítopo de qualquer dos supracitados (consultar, por exemplo, Holliger e Hudson, 2005, Nature Biotech. 23(9):1126-1136; Adair and Lawson, 2005, Drug Design Reviews - Online 2(3), 209-217). Os métodos para criar e fabricar esses fragmentos de anticorpo são bem conhecidos na técnica (consultar, por exemplo, Verma et al., 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165 a 181). Outros fragmentos de anticorpo para uso na presente invenção incluem os fragmentos Fab e Fab' descritos nos pedidos de patente internacional nº WO2005/003169, nº WO2005/003170 e nº WO2005/003171. Anticorpos multivalentes podem compreender múltiplas especificidades, por exemplo, biespecíficos ou pode ser monoespecíficos (consultar, por exemplo, nº WO 92/22853, WO05/113605, WO2009/040562 e WO2010/035012).

[0102] Em uma modalidade, a molécula de anticorpo da presente revelação é um fragmento Fab' de anticorpo que compreende as regiões variáveis mostradas nas SEQ ID NOs: 15 e 29 por exemplo, para a cadeias leve e pesada respectivamente. Em uma modalidade, a molécula de anticorpo tem uma cadeia leve que compreende a sequência dada na SEQ ID NO:22 e uma cadeia pesada que compreende a sequência dada na SEQ ID NO:36.

[0103] Em uma modalidade, a molécula de anticorpo da presente revelação é um anticorpo IgG1 de comprimento total que compreende as regiões variáveis mostradas

na SEQ ID NOs: 15 e 29 por exemplo, para a cadeias leve e pesada respectivamente. Em uma modalidade, a molécula de anticorpo tem uma cadeia leve que compreende a sequência dada na SEQ ID NO:22 e uma cadeia pesada que compreende a sequência dada na SEQ ID NO:72.

[0104] Em uma modalidade, a molécula de anticorpo da presente revelação é um formato IgG4 de comprimento total que compreende as regiões variáveis mostradas na SEQ ID NOs: 15 e 29 por exemplo, para a cadeias leve e pesada respectivamente. Em uma modalidade, a molécula de anticorpo tem uma cadeia leve que compreende a sequência dada na SEQ ID NO:22 e uma cadeia pesada que compreende a sequência dada na SEQ ID NO:87.

[0105] Em uma modalidade, a molécula de anticorpo da presente revelação é um formato IgG4P de comprimento total que compreende as regiões variáveis mostradas na SEQ ID NOs: 15 e 29 por exemplo, para a cadeias leve e pesada respectivamente. Em uma modalidade, a molécula de anticorpo tem uma cadeia leve que compreende a sequência dada na SEQ ID NO:22 e uma cadeia pesada que compreende a sequência dada na SEQ ID NO:43.

[0106] IgG4P conforme empregado no presente documento, é uma mutação do isotipo IgG4 de tipo selvagem em que aminoácido 241 é substituído por prolina, consultar, por exemplo, em que serina na posição 241 foi mudada para prolina conforme descrito em Angal et al., Molecular Immunology, 1993, 30 (1), 105 a 108.

[0107] Em uma modalidade, o anticorpo de acordo com a presente revelação é fornecido como uma proteína de fusão de anticorpo de ligação a FcRn que compreende uma porção química de imunoglobulina, por exemplo, um fragmento Fab ou Fab', e um ou dois anticorpos de domínio únicos (dAb) vinculados direta ou indiretamente aos mesmos, por exemplo, conforme descrito no documento nº WO2009/040562, WO2010035012, WO2011/030107, WO2011/061492 e WO2011/086091 todos incorporados ao presente documento a título de referência.

[0108] Em uma modalidade, a proteína de fusão compreende dois anticorpos de domínio, por exemplo, como um pareamento pesado variável (VH) e leve variável (VL), opcionalmente vinculado por uma ligação de dissulfeto.

[0109] Em uma modalidade, o elemento de Fab ou Fab' da proteína de fusão tem a mesma especificidade ou especificidade similar ao anticorpo ou anticorpos de domínio único. Em uma modalidade, o Fab ou Fab' tem uma especificidade diferente ao anticorpo ou anticorpos de domínio único, ou seja, a proteína de fusão é multivalente. Em uma modalidade, uma proteína de fusão multivalente de acordo com a presente invenção tem um sítio de ligação de albumina, por exemplo, um par VH/VL no mesmo fornece um sítio de ligação de albumina. Em tal modalidade, a cadeia pesada compreende a sequência dada na SEQ ID NO:50 e a cadeia leve compreende a sequência dada na SEQ ID NO:46 ou SEQ ID NO:78.

[0110] Em uma modalidade, o Fab ou Fab' de acordo com a presente revelação é conjugada a uma molécula de PEG ou albumina de soro humano.

[0111] CA170_01519g57 e 1519 e 1519.g57 são empregados de modo intercambiável no presente documento e são usados para se referir a um par específico de regiões variáveis de anticorpo que podem ser usados em vários formatos diferentes. Essas regiões variáveis são a sequência de cadeia pesada dada na SEQ ID NO:29 e a sequência de cadeia leve dada na SEQ ID NO:15 (Figura 1).

[0112] Os domínios de região constante da molécula de anticorpo da presente invenção, se estiver presente, podem ser selecionados considerando a função proposta da molécula de anticorpo e, em particular, as funções efetoras que podem ser exigidas. Por exemplo, os domínios de região constante podem ser domínios de IgA, IgD, IgE, IgG ou IgM humana. Em particular, os domínios de região constante de IgG humana podem ser usados, especialmente dos isótipos de IgG1 e IgG3 quando a molécula de anticorpo se destinar a usos terapêuticos e as funções efetoras de anticorpo forem exigidas. Alternativamente, os isótipos de IgG2 e IgG4 podem ser usados quando a molécula de anticorpo for destinada a propósitos terapêuticos e funções efetoras de anticorpo não forem exigidas. Será verificado que variantes de sequência desses domínios de região constante também podem ser usados. Por exemplo, moléculas de IgG4 nas quais a serina na posição 241 foi mudada para prolina conforme descrito em Angal et al., Molecular Immunology, 1993, 30 (1), 105 a 108 podem ser usadas. Também será entendido por um versado na técnica que

anticorpos podem ser submetidos a uma variedade de modificações pós-tradutórias. O tipo e a extensão dessas modificações frequentemente dependem da linhagem de célula hospedeira usada para expressar o anticorpo assim como as condições de cultivo. Tais modificações podem incluir variações em glicosilação, oxidação de metionina, formação de dicetopiperazina, isomerização de aspartato e desamidação de asparagina. Uma modificação frequente é a perda de um resíduo básico carboxiterminal (como lisina ou arginina) devido à ação de carboxipeptidases (como descrito em Harris, RJ. Journal of Chromatography 705:129 a 134, 1995). Consequentemente, a lisina de terminal C do anticorpo cadeia pesada pode estar ausente.

[0113] Em uma modalidade, a cadeia pesada de anticorpo compreende um domínio de CH1 e a cadeia leve de anticorpo compreende um domínio de CL, kappa ou lambda.

[0114] Em uma modalidade, a cadeia leve tem a sequência dada na SEQ ID NO:22 e a cadeia pesada tem a sequência dada na SEQ ID NO:43.

[0115] Em uma modalidade, a cadeia leve tem a sequência dada na SEQ ID NO:22 e a cadeia pesada tem a sequência dada na SEQ ID NO:72.

[0116] Em uma modalidade, um aminoácido de terminal C da molécula de anticorpo é clivado durante modificações pós-tradução.

[0117] Em uma modalidade, um aminoácido de terminal N da molécula de anticorpo é clivado durante modificações pós-tradução.

[0118] É também fornecida pela presente revelação uma região específica ou epítopo de FcRn humano que pode ser ligado por um anticorpo fornecido pela revelação, em particular, um anticorpo que compreende a sequência de cadeia pesada gH20 (SEQ ID NO:29) e/ou a sequência de cadeia leve gL20 (SEQ ID NO:15).

[0119] Essa região específica ou epítopo do polipeptídeo de FcRn humano pode ser identificado por qualquer método de mapeamento de epítopo adequado conhecido na técnica em combinação com qualquer um dos anticorpos fornecidos pela presente invenção. Exemplos de tais métodos incluem peptídeos de triagem de comprimentos variados derivados de FcRn para ligação ao anticorpo da presente invenção com o

menor fragmento que pode se ligar especificamente ao anticorpo que contém a sequência do epítopo reconhecido pelo anticorpo. Os peptídeos de FcRn podem ser produzidos sinteticamente ou por digestão proteolítica do polipeptídeo de FcRn. Peptídeos que se ligam ao anticorpo podem ser identificados, por exemplo, por análise espectrométrica de massa. Em outro exemplo, espectroscopia de NMR ou cristalografia de raio X pode ser usada para identificar o epítopo ligado por um anticorpo da presente revelação. Uma vez identificado, o fragmento epitópico que se liga a um anticorpo da presente revelação pode ser usado, se for necessário, como um imunógeno para obter anticorpos adicionais que se ligam ao mesmo epítopo.

[0120] Em uma modalidade um anticorpo da presente revelação se liga à sequência extracelular de cadeia alfa de FcRn humano conforme mostrado abaixo:

[0121] AESHLSLLYH LTAVSSPAPG TPAFWVSGWL GPQQYLSYNS LRGEAEPCGA WVWENQVSWY WEKETTDLRI KEKLFLEAFK ALGGKGPYTL QGLLGCELGP DNTSVPTAKF ALNGEEFMNF DLKQGTWGGD WPEALAISQR WQQQDKAANK ELTFLLFSCP HRLREHLERG RGNLEWKEPP SMRLKARPSS PGFSVLTCSA FSFYPPELQL RFLRNGLAAG TGQGDFGPNS DGSFHASSSL TVKSGDEHHY CCIVQHAGLA QPLRVELESPAKSS (SEQ ID NO: 94).

[0122] Os resíduos sublinhados são aqueles conhecidos para serem cruciais para a interação de FcRn humano com a região de Fc de IgG humano e aqueles resíduos destacados em negrito são aqueles envolvidos na interação de FcRn com o anticorpo 1519 da presente revelação que compreende a sequência de cadeia pesada gH20 (SEQ ID NO:29) e a sequência de cadeia leve gL20 (SEQ ID NO:15).

[0123] Em um exemplo, um anticorpo para uso na presente invenção é uma molécula de anticorpo antiFcRn que se liga um epítopo de FcRn humano que compreende pelo menos um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em resíduos V105, P106, T107, A108 e K109 da SEQ ID NO:94 e pelo menos um resíduo, por exemplo, pelo menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 resíduos selecionados a partir do grupo que consiste em P100, E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 e E133 da SEQ ID NO:94

[0124] Em um exemplo, o epítopo da molécula de anticorpo é determinado por

cristalografia de raio X com uso da sequência extracelular de cadeia alfa FcRn (SEQ ID NO:94) em complexo com β2M, conforme descrito nos Exemplos no presente documento.

[0125] Em um exemplo, um anticorpo para uso na presente invenção é uma molécula de anticorpo antiFcRn que se liga um epítopo de FcRn humano que compreende pelo menos um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em resíduos V105, P106, T107, A108 e K109 da SEQ ID NO:94 e pelo menos um resíduo, por exemplo, pelo menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 resíduos selecionados a partir do grupo que consiste em E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123 e Q124 da SEQ ID NO:94

[0126] Em um exemplo, um anticorpo para uso na presente invenção é uma molécula antiFcRn de anticorpo que se liga a um epítopo de FcRn humano que compreende pelo menos dois, três, quatro ou cinco aminoácidos selecionados a partir do grupo que consiste em resíduos V105, P106, T107, A108 e K109 da SEQ ID NO:94 e pelo menos um resíduo selecionado a partir do grupo que consiste em E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123 e Q124 da SEQ ID NO:94.

[0127] Em um exemplo, um anticorpo para uso na presente invenção é uma molécula de anticorpo antiFcRn que se liga um epítopo de FcRn humano que compreende pelo menos um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em resíduos V105, P106, T107, A108 e K109 da SEQ ID NO:94 e pelo menos um resíduo selecionado a partir do grupo que consiste em P100, E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 e E133 da SEQ ID NO:94

[0128] Em um exemplo, um anticorpo para uso na presente invenção é uma molécula antiFcRn de anticorpo que se liga a um epítopo de FcRn humano que compreende pelo menos um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em resíduos V105, P106, T107, A108 e K109 da SEQ ID NO:94 e pelo menos um resíduo selecionado a partir do grupo que consiste em P100, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124 e G128 da SEQ ID NO:94.

[0129] Em um exemplo, um anticorpo para uso na presente invenção é uma

molécula antiFcRn de anticorpo que se liga a um epítopo de FcRn humano que compreende resíduos V105, P106, T107, A108 e K109 da SEQ ID NO:94 e pelo menos um resíduo selecionado a partir do grupo que consiste em P100, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124 e G128 da SEQ ID NO:94.

[0130] Em um exemplo, um anticorpo para uso na presente invenção é uma molécula antiFcRn de anticorpo que se liga a um epítopo de FcRn humano que compreende resíduos V105, P106, T107, A108 e K109 da SEQ ID NO:94 e pelo menos um resíduo selecionado a partir do grupo que consiste em P100, E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 e E133 da SEQ ID NO:94.

[0131] Em um exemplo, um anticorpo para uso na presente invenção é uma molécula antiFcRn de anticorpo que se liga a um epítopo de FcRn humano que compreende resíduos P100, V105, P106, T107, A108 e K109 da SEQ ID NO:94 e pelo menos um resíduo selecionado a partir do grupo que consiste em E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 e E133 da SEQ ID NO:94.

[0132] Em um exemplo ‘pelo menos um resíduo’ pode ser 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 ou 16 resíduos.

[0133] Em um exemplo, um anticorpo para uso na presente invenção é uma molécula antiFcRn de anticorpo que se liga a um epítopo de FcRn humano que compreende ou consiste em resíduos 100, 105 to 109, 115 a 124 e 129 a 133 da SEQ ID NO: 94.

[0134] Anticorpos que realizam bloqueio cruzado na ligação de uma molécula de anticorpo de acordo com a presente revelação em particular, uma molécula de anticorpo que compreende a sequência de cadeia pesada dada na SEQ ID NO:29 e a sequência de cadeia leve dada na SEQ ID NO:15 pode ser similarmente útil em bloquear a atividade de FcRn. Consequentemente, a presente revelação também fornece uma molécula antiFcRn de anticorpo para uso na presente invenção, que realiza bloqueio cruzado na ligação de qualquer um do moléculas de anticorpo descrita no presente documento acima to FcRn humano e/ou é bloqueada com

cruzamento a partir da ligação do FcRn humano por qualquer um daqueles anticorpos. Em uma modalidade, tal anticorpo se liga ao mesmo epítopo como um anticorpo descrito no presente documento acima. Em outra modalidade o anticorpo de neutralização de bloqueio cruzado se liga a um epítopo que faz fronteira e/ou se sobrepõe com o epítopo ligado por um anticorpo descrito no presente documento acima.

[0135] Os anticorpos de bloqueio cruzado podem ser identificados com uso de qualquer método adequado na técnica, por exemplo, com uso de ensaios de ELISA ou BIAcore de competição em que a ligação do anticorpo de bloqueio cruzado a FcRn humano previne a ligação de um anticorpo da presente invenção ou vice-versa. Tais ensaios de bloqueio cruzado pode usar FcRn natural ou recombinante isolado ou uma proteína de fusão/polipeptídeo adequada. Em um exemplo, ligação e bloqueio cruzado é medido com uso de domínio extracelular de FcRn humano recombinante (SEQ ID NO:94). Em um exemplo, o domínio extracelular de cadeia alfa de FcRn humano recombinante é usado em um complexo com microglobulina β2 (β2M) (SEQ ID NO:95).

[0136] Em uma modalidade é fornecido uma molécula antiFcRn de anticorpo para uso na presente invenção que bloqueia FcRn que se liga a IgG e que realiza bloquei cruzado na ligação de um anticorpo cuja cadeia pesada compreende a sequência dada na SEQ ID NO:29 e cuja cadeia leve compreende a sequência dada na SEQ ID NO:15 a FcRn humano. Em uma modalidade, os anticorpos de bloqueio cruzado fornecidos pela presente invenção inibem a ligação de um anticorpo que compreende a sequência de cadeia pesada dada na SEQ ID NO:29 e a sequência de cadeia leve dada na SEQ ID NO:15 em mais do que 80%, por exemplo, em mais do que 85%, tal como em mais do que 90%, em particular, em mais do que 95%.

[0137] Alternativa ou adicionalmente, anticorpos antiFcRn de acordo com esse aspecto da invenção pode ser bloqueado com cruzamento a partir da ligação a FcRn humano por um anticorpo que compreende a sequência de cadeia pesada dada na SEQ ID NO:29 e a sequência de cadeia leve dada na SEQ ID NO:15. Portanto, é também fornecida uma molécula antiFcRn de anticorpo que bloqueia FcRn ligando-se

a IgG e que é bloqueada com cruzamento da ligação de FcRn humano por um anticorpo que compreende a sequência de cadeia pesada dada na SEQ ID NO:29 e a sequência de cadeia leve dada na SEQ ID NO:15. Em uma modalidade os anticorpos antiFcRn fornecidos por esse aspecto da invenção são inibidos de se ligar a FcRn humano por um anticorpo que compreende a sequência de cadeia pesada dada na SEQ ID NO:29 e a sequência de cadeia leve dada na SEQ ID NO:15 em mais do que 80%, por exemplo, em mais do que 85%, tal como em mais do que 90%, em particular em mais do que 95%.

[0138] Em uma modalidade, os anticorpos de bloqueio cruzado fornecidos pela presente revelação são totalmente humanos. Em uma modalidade, os anticorpos de bloqueio cruzado fornecidos pela presente revelação são humanizados. Em uma modalidade, os anticorpos de bloqueio cruzado fornecidos pela presente revelação têm uma afinidade para FcRn humano de 100 pM ou menos. Em uma modalidade, os anticorpos de bloqueio cruzado fornecidos pela presente revelação têm uma afinidade para FcRn humano de 50 pM ou menos. A afinidade pode ser medida com uso dos métodos descritos no presente documento abaixo.

[0139] As moléculas biológicas, como anticorpos ou fragmentos, contêm grupos funcionais ácidos e/ou básicos, fornecendo, assim, a molécula uma carga positiva ou negativa líquida. A quantidade de carga geral “observada” irá depender da sequência de aminoácidos absoluta da entidade, o ambiente local dos grupos carregados na estrutura em 3D e as condições ambientais da molécula. O ponto isoelétrico (pI) é o pH no qual uma molécula particular ou superfície acessível a solvente da mesma não porta carga elétrica líquida. Em um exemplo, o anticorpo FcRn e fragmentos da invenção pode ser manipulado geneticamente para ter um ponto isoelétrico apropriado. Isso pode causar anticorpos e/ou fragmentos com propriedades mais robustas, em particular, perfis de solubilidade e/ou estabilidade adequados e/ou características de purificação melhoradas.

[0140] Desse modo, em um aspecto, a revelação fornece um anticorpo FcRn humanizado manipulado geneticamente para ter um ponto isoelétrico diferente daquele do anticorpo originalmente identificado. O anticorpo pode ser, por exemplo,

manipulado geneticamente substituindo-se um resíduo de aminoácido tal como substituindo-se um resíduo de aminoácido ácido com um ou mais resíduos de aminoácido básico. Alternativamente, resíduos de aminoácido básico podem ser introduzidos ou resíduos de aminoácido ácido podem ser removidos. Alternativamente, se a molécula tiver um valor pI inaceitavelmente alto, resíduos ácidos podem ser introduzidos para abaixar o pI, conforme necessário. É importante que, ao manipular o pI, é preciso ter cuidado ao reter a atividade desejável do anticorpo ou fragmento. Desse modo, em uma modalidade, o anticorpo ou fragmento manipulado geneticamente tem a mesma ou substancialmente a mesma atividade que o anticorpo ou fragmento “não modificado”.

[0141] Programas tais como ** ExPASY http://www.expasy.ch/tools/pi_tool.html, e **[0142]** http://www.iut-arles.up.univ-mrs.fr/w3bb/d_abim/compo-p.html, pode ser usado para prever o ponto isoelétrico do anticorpo ou fragmento.

[0143] As moléculas de anticorpo para uso na presente invenção têm adequadamente uma alta afinidade de ligação, em particular, na faixa nanomolar. Afinidade pode ser medida com uso de qualquer método conhecido adequado na técnica, incluindo BIAcore, conforme descrito nos Exemplos no presente documento, com uso de FcRn natural ou recombinante isolado ou uma proteína de fusão/polipeptídeo adequada. Em um exemplo, a afinidade é medida com uso de domínio extracelular de FcRn humano recombinante conforme descrito nos Exemplos no presente documento (SEQ ID NO:94) e no documento nº WO2014/019727. Em um exemplo, a afinidade é medida com uso do domínio extracelular de cadeia alfa de FcRn humano recombinante (SEQ ID NO:94) em associação com microglobulina β2 (β2M) (SEQ ID NO:95). Adequadamente, as moléculas de anticorpo para uso na presente invenção têm uma afinidade de ligação para FcRn humano isolado de cerca de 1 nM ou menor. Em uma modalidade, a molécula de anticorpo da presente invenção tem uma afinidade de ligação de cerca de 500 pM ou menor (isto é, maior afinidade). Em uma modalidade, a molécula de anticorpo da presente invenção tem uma afinidade de ligação de cerca de 250 pM ou menor. Em uma modalidade, a molécula de anticorpo da presente invenção tem uma afinidade de ligação de cerca

de 200 pM ou menor. Em uma modalidade, a presente invenção fornece um anticorpo antiFcRn com uma afinidade de ligação de cerca de 100 pM ou menor. Em uma modalidade, a presente invenção fornece um anticorpo antiFcRn humanizado com uma afinidade de ligação de cerca de 100 pM ou menor. Em uma modalidade, a presente invenção fornece um anticorpo antiFcRn com uma afinidade de ligação de 50 pM ou menor.

[0144] De modo importante, os anticorpos para uso na presente invenção têm capacidade de se ligar a FcRn humano tanto em pH 6 quanto em pH 7,4 com afinidade de ligação comparável. De modo vantajoso, portanto, os anticorpos têm capacidade de continuar a se ligar a FcRn, mesmo dentro do endossoma, maximizando assim o bloqueio de ligação de FcRn a IgG.

[0145] Em um exemplo, a presente revelação fornece um anticorpo antiFcRn com uma afinidade de ligação de 100 pM ou menor quando medido em pH 6 e pH 7,4. Em um exemplo o anticorpo para uso na invenção é um anticorpo antiFcRn com uma afinidade de ligação de 50 pM ou menor quando medido em pH 6 e pH 7,4.

[0146] A afinidade de um anticorpo ou fragmento de ligação da presente invenção, assim como a extensão à qual um agente de ligação (tal como um anticorpo) inibe a ligação, pode ser determinada por elemento de habilidade comum na técnica com uso de técnicas convencionais, por exemplo, aquelas descritas por Scatchard et al. (Ann. KY. Acad. Sci. 51:660-672 (1949)) ou por ressonância de plasmon de superfície (SPR) com uso de sistemas tais como BIAcore. Para ressonância de plasmon de superfície, moléculas alvo são imobilizados em uma fase sólida e exposta a ligantes em uma fase móvel que correm ao longo de uma célula de fluxo. Se o ligante que se liga ao alvo imobilizado ocorre, o índice refrativo local muda, causando uma mudança de ângulo de SPR, que pode ser monitorado em tempo real detectando-se mudanças na intensidade da luz refletida. As taxas de mudança do sinal de SPR pode ser analisado para render constantes de taxa aparente para as fases de associação e dissociação da reação de ligação. A razão desses valores gera a constante de equilíbrio aparente (afinidade) (consultar, por exemplo, Wolff et al, Cancer Res. 53:2560 a 65 (1993)).

[0147] Na presente invenção, a afinidade de molécula de anticorpo de teste é

tipicamente determinada com uso de SPR conforme a seguir. A molécula de anticorpo de teste é capturada na fase sólida e domínio extracelular de cadeia alfa de FcRn humano em complexo não covalente com β2M é corre pelo anticorpo capturado na fase móvel e afinidade de molécula de anticorpo de teste para FcRn humano determinada. A molécula de anticorpo de teste pode ser capturada na superfície de chip de fase sólida com uso de qualquer método apropriado, por exemplo, com uso de um agente de captura específico antiFc ou antiFab'. Em um exemplo, a afinidade é determinada em pH 6. Em um exemplo, a afinidade é determinada em pH 7,4.

[0148] Será verificado que a afinidade de anticorpos fornecidos pela presente invenção pode ser alterada com uso de qualquer método conhecido adequado na técnica. Portanto, a presente invenção também se refere a variantes das moléculas de anticorpo da presente invenção, que têm uma afinidade melhorada para FcRn. Tais variantes podem ser obtidas por vários protocolos de maturação de afinidade incluindo maturação das CDRs (Yang et al., J. Mol. Biol., 254, 392-403, 1995), embaralhamento de cadeia (Marks et al., Bio/Technology, 10, 779-783, 1992), uso de cepas mutadoras de E. coli (Low et al., J. Mol. Biol., 250, 359-368, 1996), embaralhamento de DNA (Patten et al., Curr. Opin. Biotechnol., 8, 724-733, 1997), exibição de fago (Thompson et al., J. Mol. Biol., 256, 77-88, 1996) e PCR sexual (Crameri et al., Nature, 391, 288-291, 1998). Vaughan et al. (supra) discute esses métodos de maturação de afinidade.

[0149] Em uma modalidade, as moléculas de anticorpo para uso na presente invenção bloqueiam atividade de FcRn humano. Ensaios adequados para determinar a capacidade de um anticorpo para bloquear FcRn são descritos no documento nº WO2014/019727. Ensaios adequados para determinar a possibilidade de interação de FcRn de bloqueio de anticorpos com moléculas de IgG circulatórias são também descritos no documento nº WO2014/019727 em conjunto com um ensaio adequado para determinar a capacidade de uma molécula de anticorpo para bloquear recirculação de IgG in vitro.

[0150] Se for desejado, um anticorpo para uso na presente invenção pode ser conjugado a uma ou mais molécula (ou moléculas) efetora. Será verificado que a molécula efetora pode compreender uma única molécula efetora ou duas ou mais tais

moléculas então vinculadas de modo a formar uma porção química única que pode ser fixada aos anticorpos da presente invenção. Onde for desejado obter um fragmento de anticorpo vinculado a uma molécula efetora, isso pode ser preparado por procedimentos de produto químico padrão ou DNA recombinante nos quais o fragmento de anticorpo é vinculado tanto diretamente como por meio de um agente de acoplamento à molécula efetora. Técnicas para conjugar tais moléculas efetoras a anticorpos são conhecidas na técnica (consultar, Hellstrom et al., Controlled Drug Delivery, 2ª Ed., Robinson et al., eds., 1987, pp. 623 a 53; Thorpe et al., 1982, Immunol. Rev., 62:119-58 e Dubowchik et al., 1999, Pharmacology and Therapeutics, 83, 67 a 123). Procedimentos químicos particulares incluem, por exemplo, aqueles descritos no documento nº WO 93/06231, WO 92/22583, WO 89/00195, WO 89/01476 e WO 03/031581. Alternativamente, onde a molécula efetora for uma proteína ou polipeptídeo o vínculo pode ser alcançado com uso de procedimentos de DNA recombinantes, por exemplo, conforme descrito no documento nº WO 86/01533 e EP0392745.

[0151] O termo molécula efetora conforme usado no presente documento inclui, por exemplo, agentes antineoplásticos, fármacos, toxinas, proteínas biologicamente ativas, por exemplo, enzimas, outro anticorpo ou fragmentos de anticorpo, polímeros sintéticos ou naturalmente ocorrentes, ácidos nucleicos e fragmentos dos mesmos, por exemplo, DNA, RNA e fragmentos dos mesmos, radionuclídeos, particularmente radioiodeto, radioisótopos, metais quelados, nanopartículas e grupos repórter, tais como compostos fluorescentes ou compostos que podem ser detectados por espectroscopia NMR ou ESR.

[0152] Exemplos de moléculas efetoras pode incluir citotoxinas ou agentes citotóxicos incluindo qualquer agente que é prejudicial às (por exemplo, elimina) células. Exemplos incluem combrestatinas, dolastatinas, epotilonas, estaurosporina, maitansinoides, espongistatinas, rizoxina, halichondrinas, roridinas, hemiasterlinas, taxol, citocalasina B, gramicidina D, brometo de etídio, emetina, mitomicina, etoposida, tenopósido, vincristina, vinblastina, colquicina, doxorubicina, daunorubicina, dihydroxiantracindiona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-

dehidrotestosterona, glucocorticoideos, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol, e puromicina e análogos ou homólogos dos mesmos.

[0153] Moléculas efetoras também incluem, porém, sem limitação, antimetabólitos (por exemplo, metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, decarbazina de 5-fluorouracila), agentes alquilantes (por exemplo, mecloretamina, tioepa clorambucila, melfalano, carmustina (BSNU) e lomustina (CCNU), ciclotosfamida, busulfano, dibromomanitol, estreptozotocina, mitomicina C, e cis-diclorodiamina platina (II) (DDP) cisplatina), antraciclinas (por exemplo, daunorubicina (formalmente daunomicina) e doxorubicina), antibióticos (por exemplo, dactinomicina (formalmente actinomicina), bleomicina, mitramicina, antramicina (AMC), caliceamicinas ou duocarmicinas), e agentes antimitótico (por exemplo, vincristina e vinblastina).

[0154] Outras moléculas efetoras podem incluir radionuclídeos quelados, tais como ^{111}In e ^{90}Y, Lu^{177}, Bismute^{213}, Califórnio^{252}, Irídio^{192} e Tungstênio^{188}/Rênio^{188}; ou fármacos, tais como, porém, sem limitação, alquilfosfocolinas, inibidores de topoisomerase I, taxoides e suramina.

[0155] Outras moléculas efetoras incluem proteínas, peptídeos e enzimas. Enzimas de interesse incluem, porém, sem limitação, enzimas proteolíticas, hidrolases, liases, isomerases, transferases. Proteínas, polipeptídeos e peptídeos de interesse incluem, porém, sem limitação, imunoglobulinas, toxinas tal como abrina, ricina A, pseudomonas exotoxina, ou toxina de difteria, uma proteína tal como insulina, fator de necrose de tumor, α-interferon, β-interferon, fator de crescimento de nervo, fator de crescimento derivado de plaqueta ou ativador de plasmogênio de tecido, um agente trombótico ou um agente antiangiogênico, por exemplo, angiostatina ou endostatina, ou um modificador de resposta biológica, tal como um linfocina, interleucina-1 (IL-1), interleucina-2 (IL-2), fator de estimulação de colônia de macrófagos de granulócito (GM-CSF), fator de estimulação de colônia de granulócito (G-CSF), fator de crescimento de nervo (NGF) ou outro fator de crescimento e imunoglobulinas.

[0156] Outras moléculas efetoras podem incluir substâncias detectáveis úteis por exemplo, em diagnóstico. Exemplos de substâncias detectáveis incluem várias

enzimas, grupos prostéticos, materiais fluorescentes, materiais luminescentes, materiais bioluminescentes, nuclídeos radioativos, materiais emissores de pósitron (para uso em tomografia de emissão de pósitron), e íons de metal paramagnéticos não radioativos. Consultar, de modo geral, a Patente nº U.S. 4.741.900 para íons de metal que podem ser conjugados a anticorpos para uso como diagnósticos. Enzimas adequadas incluem peroxidase de rábano, fosfatase alcalina, beta-galactosidase, ou acetilcolinasterase; grupos prostéticos adequados incluem estreptavidina, avidina e biotina; materiais fluorescentes adequados incluem umbelliferona, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, fluoresceína de diclorotriazinilamina, cloreto de dansila e ficoeritrina; materiais luminescentes adequados incluem luminol; materiais bioluminescentes adequados incluem luciferase, luciferina e aequorina; e nuclídeos radioativos adequados incluem ^{125}I, ^{131}I, ^{111}In e ^{99}Tc.

[0157] Em outro exemplo, a molécula efetora pode aumentar a meia-vida do anticorpo in vivo, e/ou reduzir imunogenicidade do anticorpo e/ou intensificar a entrega de um anticorpo através de uma barreira epitelial ao sistema imune. Exemplos de moléculas efetoras adequadas desse tipo incluem polímeros, albumina, proteínas de ligação de albumina ou compostos de ligação de albumina, tais como aquelas descritas no documento nº WO05/117984.

[0158] Onde a molécula efetora for um polímero, a mesma pode, em geral, ser um polímero sintético ou naturalmente ocorrente, por exemplo, um polialquileno de cadeia linear ou ramificada opcionalmente substituída, polialquenileno ou polímero de polioxialquileno ou um polissacarídeo ramificado ou não ramificado, por exemplo, um homo, ou heteropolissacarídeo.

[0159] Substituintes opcionais específicos que podem estar presentes nos polímeros sintéticos mencionados acima incluem um ou mais grupos hidróxi, metila ou metóxi.

[0160] Exemplos específicos de polímeros sintéticos incluem poli(etileniglicol) de cadeia linear ou ramificada opcionalmente substituída, poli(propileniglicol) poli(vinilálcool) ou derivados dos mesmos, poli(etilenoglicol) especial e opcionalmente substituído, tal como metoxipoli(etilenoglicol) ou derivados dos mesmos.

[0161] Polímeros naturalmente ocorrente específicos incluem lactose, amilose, dextrano, glicogeno ou derivados dos mesmos.

[0162] Em uma modalidade, o polímero é albumina ou um fragmento do mesmo, tal como albumina de soro humano ou um fragmento do mesmo.

[0163] “Derivados” conforme usado no presente documento se destina a incluir derivados reativos, por exemplo, grupos reativos seletivos de tiol, tais como maleimidas e similares. O grupo reativo pode ser vinculado diretamente ou através de um segmento de ligante ao polímero. Será verificado que o resíduo de tal grupo formará, em alguns casos, parte do produto como o grupo ligante entre o fragmento de anticorpo e o polímero.

[0164] O tamanho do polímero pode ser variado conforme desejado, mas estará geralmente em uma faixa de peso molecular médio de 500 Da a 50.000 Da, por exemplo, de 5.000 a 40.000 Da, tal como de 20.000 a 40.000 Da. O tamanho de polímero pode, em particular, ser selecionado com base no uso destinado do produto por exemplo, capacidade de localizar aos tecidos determinados, tais como tumores ou estender a meia-vida circulatória (para revisão, consultar Chapman, 2002, Advanced Drug Delivery Reviews, 54, 531-545). Desse modo, por exemplo, onde o produto pretender deixar a circulação e penetrar o tecido, por exemplo, para uso no tratamento de um tumor, pode ser vantajoso usar um polímero de pequeno peso molecular, por exemplo, com um peso molecular de cerca de 5.000 Da. Para aplicações em que o produto permanece na circulação, pode ser vantajoso usar um polímero de maior peso molecular, por exemplo, que tem um peso molecular na faixa de 20.000 Da a 40.000 Da.

[0165] Polímeros adequados incluem um polímero de polialquileno, tal como um poli(etilenoglicol) ou, especialmente, um metoxipoli(etilenoglicol) ou um derivado do mesmo, e especialmente com um peso molecular na faixa de cerca de 15.000 Da a cerca de 40.000 Da.

[0166] Em um exemplo, anticorpos para uso na presente invenção são fixados a porções químicas de poli(etilenoglicol) (PEG). Em um exemplo particular, o anticorpo é um fragmento de anticorpo e as moléculas de PEG pode ser fixado através de

qualquer cadeia lateral de aminoácido disponível ou grupo funcional de aminoácido terminal localizado no fragmento de anticorpo, por exemplo, qualquer grupo amino, imino, tiol, hidroxila ou carboxila livre. Tais aminoácidos podem ocorrer naturalmente no fragmento de anticorpo ou podem ser manipulados geneticamente no fragmento com uso de métodos de DNA recombinante (consultar, por exemplo, documento nº U.S. 5.219.996; U.S. 5.667.425; WO98/25971, WO2008/038024). Em um exemplo, a molécula de anticorpo da presente invenção é um fragmento Fab modificado em que a modificação é a adição à extremidade de terminal C de sua cadeia pesada um ou mais aminoácidos para permitir a fixação de uma molécula efetora. Adequadamente, os aminoácidos adicionais formam uma região de articulação modificada que contém um ou mais resíduos de cisteína às quais a molécula efetora pode ser fixada. Múltiplos sítios podem ser usados para fixar duas ou mais moléculas de PEG.

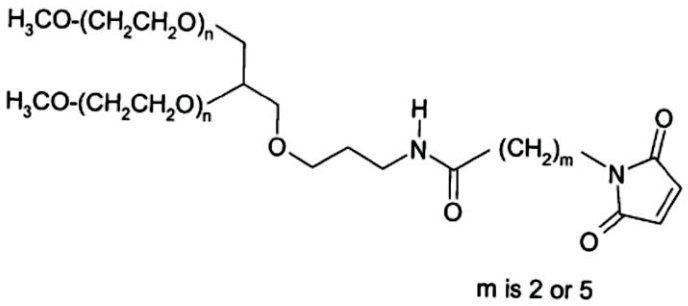
[0167] Adequadamente, moléculas de PEG são vinculadas de modo covalente através de um grupo tiol de pelo menos um resíduo de cisteína localizado no fragmento de anticorpo. Cada molécula de polímero fixado ao fragmento de anticorpo modificado pode ser vinculada de modo covalente ao átomo de enxofre de um resíduo de cisteína localizado no fragmento. O vínculo covalente será geralmente uma ligação de dissulfeto ou, em particular, uma ligação de carbono de enxofre. Quando um grupo tiol é usado como o ponto de fixação de moléculas efetoras apropriadamente ativadas, por exemplo, derivados seletivos de tiol, tais como derivados de maleimidas e cisteína podem ser usados. Um polímero ativado pode ser usado como o material de partida na preparação de fragmentos de anticorpo modificados com polímero conforme descrito acima. O polímero ativado pode ser qualquer polímero que contém um grupo tiol reativo, tal como um ácido α-halocarboxílico ou éster, por exemplo, iodoacetamida, uma imida, por exemplo, maleimida, uma sulfona de vinila ou um dissulfeto. Tais materiais de partida podem ser obtidos comercialmente (por exemplo, da Nektar, formalmente Shearwater Polymers Inc., Huntsville, AL, E.U.A) ou podem ser preparados a partir de materiais de partida comercialmente disponíveis com uso de procedimentos químicos convencionais. Moléculas de PEG particulares incluem 20K metoxi-PEG-amina (obtenível junto à Nektar, formalmente Shearwater; Rapp

Polymere; e SunBio) e M-PEG-SPA (obtenível junto à Nektar, formalmente Shearwater).

[0168] Em uma modalidade, o anticorpo é um fragmento Fab modificado, Fab' fragmento ou diFab que é PEGilado, isto é, tem PEG (poli(etilenoglicol)) fixado de modo covalente ao mesmo, por exemplo, de acordo com o método revelado em EP 0948544 ou EP1090037 [consultar também "Poly(ethyleneglycol) Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications", 1992, J. Milton Harris (ed), Plenum Press, Nova Iorque, "Poly(ethyleneglycol) Chemistry and Biological Applications", 1997, J. Milton Harris e S. Zalipsky (eds), Sociedade de Química Americana, Washington DC e "Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences", 1998, M. Aslam e A. Dent, Grove Publishers, Nova Iorque; Chapman, A. 2002, Advanced Drug Delivery Reviews 2002, 54:531-545]. Em um exemplo, PEG é fixado a uma cisteína na região de articulação. Em um exemplo, um fragmento Fab modificado com PEG tem um grupo maleimida vinculado de modo covalente a um grupo tiol único em uma região de articulação modificada. Um resíduo de lisina pode ser vinculado de modo covalente ao grupo maleimida e a cada um dos grupos amina no resíduo de lisina pode ser fixado um polímero de metoxipoli(etilenoglicol) que tem um peso molecular de aproximadamente 20.000 Da. O peso molecular total do PEG fixado ao fragmento Fab pode ser, portanto, aproximadamente, 40.000 Da.

[0169] Moléculas de PEG particulares incluem amida de 2-[3-(N-maleimido)propionamido]etila de lisina modificada por MW de N,N'-bis(metoxipoli(etileno glicol) 20.000), também conhecida como PEG2MAL40K (obtenível junto à Nektar, formalmente Shearwater).

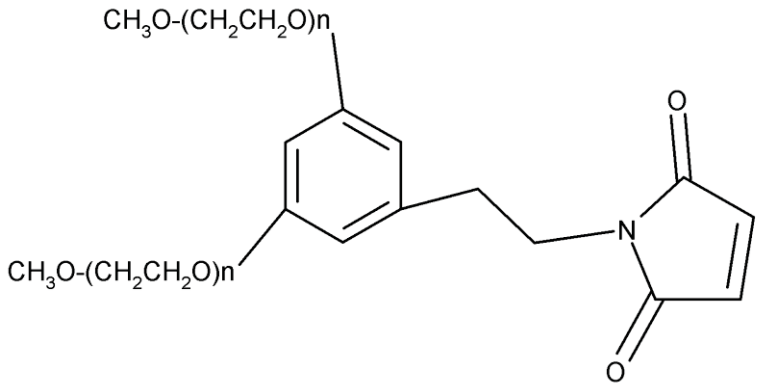
[0170] Fontes alternativas de ligantes de PEG incluem NOF que suprem GL2-400MA3 (em que m na estrutura abaixo é 5) e GL2-400MA (em que m é 2) e n é aproximadamente 450:



[0171] Isso quer dizer que cada PEG é cerca de 20.000 Da.

[0172] Desse modo, em uma modalidade, o PEG é 2,3-Bis(metilpolioxietileno-oxi)-1-{[3-(6-maleimido-1-oxohexil)amino]propiloxi} hexano (o PEG ramificado de 2 braços, -$CH_2)_3NHCO(CH_2)_5$-MAL, Mw 40.000 conhecido como SUNBRIGHT GL2-400MA3.

[0173] Moléculas efetoras de PEG alternativas adicionais do seguinte tipo:



são disponíveis junto à Dr Reddy, NOF e Jenkem.

[0174] Em uma modalidade é fornecido um anticorpo que é PEGilado (por exemplo, com um PEG descrito no presente documento), fixado através de um resíduo de cisteína de aminoácido em ou ao redor do aminoácido 226 na cadeia, por exemplo, aminoácido 226 da cadeia pesada (por numeração sequencial), por exemplo, aminoácido 226 da SEQ ID NO:36.

[0175] Em uma modalidade, a presente revelação fornece uma molécula de PEG de Fab' que compreende um ou mais polímeros de PEG, por exemplo, 1 ou 2

polímeros, tais como um polímero ou polímeros de 40 kDa.

[0176] Em uma modalidade, é fornecido um Fab' conjugado a um polímero, tal como uma molécula de PEG, uma molécula de amido ou uma molécula de albumina.

[0177] Em uma modalidade, o anticorpo ou fragmento é conjugado a uma molécula de amido, por exemplo, para aumentar a meia-vida. Métodos de conjugação de amido a uma proteína conforme descrito em E.U.A 8.017.739 incorporado ao presente documento a título de referência.

[0178] A presente revelação também fornece uma sequência de DNA isolada que codifica a cadeia (ou cadeias) pesada e/ou leve de uma molécula de anticorpo da presente invenção. Adequadamente, a sequência de DNA codifica a cadeia pesada ou cadeia leve de uma molécula de anticorpo da presente invenção. A sequência de DNA da presente invenção pode compreender DNA sintético, por exemplo, produzido por processamento químico, cDNA, DNA genômico ou qualquer combinação dos mesmos.

[0179] As sequências de DNA que codificam uma molécula de anticorpo da presente invenção podem ser obtidas por métodos bem conhecidos por aqueles versados na técnica. Por exemplo, as sequências de DNA que codificam para parte ou a totalidade das cadeias pesadas e leves de anticorpo podem ser sintetizadas como desejado a partir das sequências de DNA determinadas ou com base nas sequências de aminoácidos correspondentes.

[0180] A codificação de DNA para sequências de arcabouço aceitadoras é amplamente disponível aos elementos versados na técnica e pode ser prontamente sintetizado com base em suas sequências de aminoácidos conhecidas.

[0181] Técnicas padrão de biologia molecular podem ser usadas para preparar sequências de DNA que codificam a molécula de anticorpo da presente invenção. Sequências de DNA desejadas podem ser sintetizadas completamente ou em parte com uso de técnicas de síntese de oligonucleotídeo. As técnicas de mutagênese direcionada a sítio e reação em cadeia de polimerase (PCR) podem ser usadas conforme apropriado.

[0182] Exemplos de sequências de DNA adequadas são fornecidos no presente

documento.

[0183] Exemplos de sequências de DNA adequadas que codificam a região variável de cadeia leve 1519 são fornecidos na SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17 e SEQ ID NO:90. Exemplos de sequências de DNA adequadas que codificam a região variável de cadeia pesada 1519 são fornecidos na SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31 e SEQ ID NO:92.

[0184] Exemplos de sequências de DNA adequadas que codificam a cadeia leve (variável e constante) 1519 são fornecidos na SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:75 e SEQ ID NO:91.

[0185] Exemplos de sequências de DNA adequadas que codificam a cadeia pesada (variável e constante, dependendo do formato) 1519 são fornecidos na SEQ ID NOs:37, 38 e 76 (Fab'), SEQ ID NO:72 ou 85 (IgG1), SEQ ID NO: 44 ou 93 (IgG4P) e SEQ ID:88 (IgG4).

[0186] A presente revelação também se refere a um vetor de clonagem ou expressão que compreende uma ou mais sequências de DNA da presente invenção. Consequentemente, é fornecido um vetor de clonagem ou expressão que compreende uma ou mais sequências de DNA que codificam um anticorpo da presente invenção. Adequadamente, o vetor de clonagem ou expressão compreende duas sequências de DNA, que codifica a cadeia leve e a cadeia pesada da molécula de anticorpo da presente invenção, respectivamente e sequências de sinais adequadas. Em um exemplo, o vetor compreende uma sequência intergênica entre as cadeias pesadas e as cadeias leves (consultar documento nº WO03/048208).

[0187] Os métodos gerais pelos quais os vetores podem ser construídos, os métodos de transfecção e métodos de cultivo são bem conhecidos por aqueles versados na técnica. Nesse sentido, é feita referência à "Current Protocols in Molecular Biology", 1999, F. M. Ausubel (ed), Wiley Interscience, Nova Iorque e o Maniatis Manual produzido por Cold Spring Harbor Publishing.

[0188] Além disso, é fornecida uma célula hospedeira que compreende um ou mais vetores de clonagem ou de expressão que compreende uma ou mais sequências de DNA que codificam um anticorpo da presente invenção. Qualquer sistema de

vetor/célula hospedeira adequado pode ser usado para a expressão das sequências de DNA que codifica a molécula de anticorpo da presente invenção. O sistema bacteriano, por exemplo, E. coli, e outros sistemas microbianos podem ser usados ou eucarióticos, por exemplo, sistemas de expressão de célula hospedeira de mamífero também podem ser usados. As células hospedeiras de mamífero adequadas incluem CHO, mieloma ou células de hibridoma.

[0189] Tipos adequados de Ovário de Hamster Chinês (células de CHO) para uso na presente invenção podem incluir células de CHO e CHO-K1 incluindo células de dhfr-CHO, tais como células de CHO-DG44 e células de CHO-DXB11 e que podem ser usadas com um marcador selecionável de DHFR ou células de CHOK1-SV que podem ser usadas com um marcador selecionável de glutamina sintetase. Outros tipos de célula de uso ao expressar anticorpos incluem linhagens celulares linfocíticas, por exemplo, células de mieloma de NSO e células de SP2, células de COS.

[0190] A presente revelação também fornece um processo para a produção de uma molécula de anticorpo de acordo com a presente invenção que compreende cultivar uma célula hospedeira que contém um vetor da presente invenção sob condições adequadas para levar à expressão de proteína de DNA que codifica a molécula de anticorpo da presente invenção, e isolar a molécula de anticorpo.

[0191] A molécula de anticorpo pode compreender somente um polipeptídeo de cadeia pesada ou leve, em cujo caso somente uma sequência de codificação de polipeptídeo de cadeia pesada ou cadeia leve precisa ser usada para transfectar as células hospedeiras. Para produção de produtos que compreendem tanto cadeias pesadas quanto cadeias leves, a linhagem celular pode ser transfectada com dois vetores, um primeiro vetor que codifica um polipeptídeo de cadeia leve e um segundo vetor que codifica um polipeptídeo de cadeia pesada. Alternativamente, um vetor único pode ser usado, o vetor incluindo sequências que codificam os polipeptídeos de cadeia leve e cadeia pesada.

[0192] Anticorpos para uso na presente invenção podem ser fornecidos como uma composição farmacêutica ou diagnóstica que compreende uma molécula de anticorpo da presente revelação em combinação com um ou mais de um excipiente, diluente ou

carreador farmaceuticamente aceitável. A composição será geralmente suprida como parte de uma composição farmacêutica estéril que incluirá normalmente um carreador farmaceuticamente aceitável. Uma composição farmacêutica da presente invenção pode compreender adicionalmente um excipiente farmaceuticamente aceitável.

[0193] A presente revelação também fornece um processo para preparação de uma composição farmacêutica ou diagnóstica que compreende adicionar ou misturar a molécula de anticorpo da presente invenção em conjunto com um ou mais dentre um excipiente, diluente ou carreador farmaceuticamente aceitável.

[0194] A molécula de anticorpo pode ser o ingrediente ativo único na composição farmacêutica ou diagnóstica ou pode ser acompanhada por outros ingredientes ativos incluindo outros ingredientes de anticorpo ou ingredientes sem anticorpo tal como esteroides ou outras moléculas de fármaco, em um exemplo, essas são moléculas de fármaco cuja meia-vida é independente de ligação de FcRn.

[0195] Composições farmacêuticas podem ser convenientemente apresentados em formas de dose unitária que contém uma quantidade predeterminada de um agente ativo da invenção por dose.

[0196] Doses terapêuticas de os anticorpos de acordo com a presente revelação não mostram efeitos de toxicologia aparentes in vivo.

[0197] Composições podem ser administradas individualmente a um paciente ou podem ser administradas em combinação (por exemplo, simultânea, sequencial ou separadamente) com outros agentes, fármacos ou hormônios. Em uma modalidade, os anticorpos ou fragmentos de ligação a antígeno de acordo com a presente revelação são empregados com um inibidor de colinasterase, um imunossupressor ou um agente imunomodulatório.

[0198] Em uma modalidade, os anticorpos ou fragmentos de ligação a antígeno de acordo com a presente revelação são empregados com uma terapia imunossupressora, tal como um esteroide, em particular, prednisona. Em uma modalidade, os anticorpos ou fragmentos de ligação a antígeno de acordo com a presente revelação são empregados com um inibidor de colinasterase, tal como piridostigmina.

[0199] Em uma modalidade, os anticorpos ou fragmentos de ligação a antígeno de acordo com a presente revelação são empregados com imunossupressores, tais como Ciclosporina ou Tacrolimus.

[0200] Em uma modalidade, os anticorpos ou fragmentos de acordo com a presente revelação são empregados com Rituximab ou outras terapias de célula B.

[0201] Em uma modalidade, os anticorpos ou fragmentos de acordo com a presente revelação são empregados com qualquer agente modulador de célula B ou célula T ou imunomodulator. Exemplos incluem metotrexato, microfeniolato e azatioprina.

[0202] Exemplos de terapias concomitantes adequadas são descritos nos Exemplos no presente documento. Em um exemplo, um agente biológico não é permitido como uma terapia concomitante.

[0203] O carreador farmaceuticamente aceitável não deve, por si só, induzir a produção de anticorpos prejudicial ao indivíduo que recebe a composição e não deve ser tóxico. Carreadores adequados podem ser macromoléculas grandes e lentamente metabolizadas, tais como proteínas, polipeptídeos, lipossomos, polissacarídeos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácido e partículas de vírus inativas.

[0204] Sais farmaceuticamente aceitáveis podem ser usados, por exemplo, sais de ácido mineral, tais como cloridratos, hidrobrometos, fosfatos e sulfatos, ou sais de ácidos orgânicos, tais como acetatos, propionatos, malonatos e benzoatos.

[0205] Carreadores farmaceuticamente aceitáveis em composições terapêuticas podem conter adicionalmente líquidos, tais como água, salino, glicerol e etanol. Adicionalmente, substâncias auxiliares, tais como agentes umidificantes ou emulsificantes ou substâncias de tamponamento de pH, podem estar presentes em tais composições. Tais carreadores possibilitam que as composições farmacêuticas sejam formuladas como tabletes, pílulas, drágeas, cápsulas, líquidos, géis, xaropes, pastas fluidas e suspensões, para ingestão pelo paciente.

[0206] Formas adequadas para administração incluem formas adequadas para administração parenteral, por exemplo, por injeção ou infusão, por exemplo, por

injeção de bolo ou infusão contínua. Onde o produto for para injeção ou infusão, o mesmo pode tomar a forma de uma suspensão, solução ou emulsão em um veículo oleoso ou aquoso e o mesmo pode conter agentes formulatórios, tais como agentes de suspensão, conservativos, estabilizantes e/ou dispersantes. Alternativamente, a molécula de anticorpo pode estar em forma seca, para reconstituição antes do uso com um líquido estéril apropriado.

[0207] Uma vez formuladas, as composições da invenção podem ser administradas diretamente ao indivíduo. Os indivíduos a serem tratados podem ser animais. No entanto, em uma ou mais modalidades, as composições são adaptadas para administração a indivíduos humanos.

[0208] Adequadamente, em formulações de acordo com a presente revelação, o pH da formulação final não é similar ao valor do ponto isoelétrico do anticorpo ou fragmento, por exemplo, se o pI da proteína está na faixa 8-9 ou acima então um pH de formulação de 7 pode ser apropriado. Embora não seja desejado se limitar a nenhuma teoria, acredita-se que isso pode fornecer definitivamente uma formulação final com estabilidade melhorada, por exemplo, o anticorpo ou fragmento permanece na solução.

[0209] As composições farmacêuticas desta invenção podem ser administradas por qualquer número de rotas incluindo, porém, sem limitação, rotas oral, intravenosa, intramuscular, intra-arterial, intramedular, intratecal, intraventricular, transdérmica, transcutânea (por exemplo, consultar o documento nº WO98/20734), subcutânea, intraperitoneal, intranasal, enteral, tópica, sublingual, intravaginal ou retal. Hipoaspersões também podem ser usadas para administrar as composições farmacêuticas da invenção. Tipicamente, as composições terapêuticas podem ser preparadas como injetáveis, tanto como soluções líquidas como suspensões. Formas sólidas adequadas para solução, ou suspensão em veículos líquidos antes da injeção também podem ser preparadas.

[0210] A entrega direta das composições será geralmente concluída por injeção, de modo subcutâneo, intraperitoneal, intravenoso ou intramuscular, ou entregue ao espaço intersticial de um tecido. O tratamento de dosagem pode ser um programa de

dose única ou um programa de múltiplas doses. Preferencialmente, a entrega é subcutânea. Em um exemplo, a entrega se dá por infusão subcutânea. Em um exemplo, a entrega não é intravenosa.

[0211] Será verificado que o ingrediente ativo na composição será uma molécula de anticorpo. Sendo assim o mesmo será suscetível à degradação no trato gastrointestinal. Desse modo, se a composição tiver de ser administrada por uma rota com uso do trato gastrointestinal, a composição precisará conter agentes que protegem o anticorpo da degradação, mas que liberam o anticorpo uma vez que o mesmo foi absorvido do trato gastrointestinal.

[0212] Uma discussão completa de carreadores farmaceuticamente aceitáveis é disponível em Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company, N.J. 1991).

[0213] O anticorpo da invenção pode ser entregue disperso em um solvente, por exemplo, na forma de uma solução ou uma suspensão. O mesmo pode ser suspenso em uma solução fisiológica apropriada, por exemplo, salino ou outro solvente farmacologicamente aceitável ou uma solução tamponada. Uma suspensão pode empregar, por exemplo, anticorpo liofilizado.

[0214] As suspensões terapêuticas ou formulações de solução podem também conter um ou mais excipientes. Excipientes são conhecidos na técnica e incluem tampões (por exemplo, tampão de citrato, tampão de fosfato, tampão de acetato e tampão de bicarbonato), aminoácidos, ureia, álcoois, ácido ascórbico, fosfolipídios, proteínas (por exemplo, albumina de soro), EDTA, cloreto de sódio, lipossomas, manitol, sorbitol e glicerol. Soluções ou suspensões podem ser encapsuladas em lipossomas ou microesferas biodegradáveis. A formulação será geralmente fornecida em uma forma substancialmente estéril que emprega processos de fabricação estéreis.

[0215] Isso pode incluir a produção e esterilização por infiltração do solvente/solução tamponada usada para a formulação, suspensão asséptica do anticorpo na solução de solvente tamponada estéril, e dispersão da formulação em receptáculos estéreis por métodos familiares aos elementos de habilidade comum na

técnica.

[0216] Uma vez formuladas, as composições da revelação podem ser administradas diretamente ao indivíduo humano, embora a revelação também verifique que o método pode ser empregado em indivíduos não humanos. Na presente revelação, o humano sofre de Miastenia grave (MG), em um exemplo, Miastenia grave generalizada, em um exemplo, MG moderada a severa, em um exemplo, MG moderada a severa generalizada. A ferramenta de classificação clínica para MG é definida abaixo, conhecida como a Classificação Clínica de Fundação de MG da América (MGFA) (Jaretzki et al, 2000). Essa é uma classificação de 5 estágios (I to V), com uma classe mais alta que indica doença mais severa. Tipicamente moderado a severo é classificada como classe II - classe IVa.

Classificação Clínica de MGFA

[0217] Classe I: Qualquer fraqueza muscular ocular; pode ter fraqueza de fechamento de olho. Toda a outra força muscular é normal.

[0218] Classe II: Fraqueza branda que afeta músculos diferentes de músculos oculares; também pode ter fraqueza muscular ocular de qualquer severidade.

A. IIa. Afeta predominantemente membros, músculos axiais ou ambos. Também pode ter menos envolvimento de músculos orofaringeais.
B. IIb. Afeta predominantemente músculos orofarigeais, respiratórios ou ambos. Também pode ter envolvimento menor ou igual de membros, músculos axiais ou ambos.

[0219] Classe III: Fraqueza moderada que afeta músculos diferentes de músculos oculares; também pode ter fraqueza muscular ocular de qualquer severidade.

A. IIIa. Afeta predominantemente membros, músculos axiais ou ambos. Também pode ter menos envolvimento de músculos orofaringeais.
B. IIIb. Afeta predominantemente músculos orofarigeais, respiratórios ou ambos. Também pode ter envolvimento menor ou igual de membros, músculos axiais ou ambos.

[0220] Classe IV: Fraqueza severa que afeta músculos diferentes de músculos oculares; também pode ter fraqueza muscular ocular de qualquer severidade.

A. IVa. Afeta predominantemente membros, músculos axiais ou ambos. Também pode ter menos envolvimento de músculos orofaringeais.

B. IVb. Afeta predominantemente músculos orofarigeais, respiratórios ou ambos. Também pode ter envolvimento menor ou igual de membros, músculos axiais ou ambos.

[0221] Classe V: Definida como intubação, com ou sem ventilação mecânica, exceto quando empregada durante gerenciamento pós-operativo de rotina. O uso de um tubo de alimentação sem intubação coloca o paciente na classe IVb.

[0222] A patofisiologia principal que causa MG é a produção anormal de anticorpos IgG direcionados ao receptor de acetilcolina nicotínico (AChR) ou proteína de quinase específica muscular (MuSK) e ambos podem ser medidos com uso de métodos padrão conhecidos na técnica, tais como radioimunoprecipitação, ELISA e ensaios de base celular.

[0223] Consequentemente, em um exemplo, o humano é positivo de autoanticorpo antiAChR e/ou antiMuSK. Em um exemplo da presente revelação o humano tem MG moderada a severa generalizada e é positivo de autoanticorpo antiAChR e/ou antiMuSK. Em um exemplo o humano tem MG moderada a severa generalizada, é positiva de autoanticorpo antiAChR e/ou antiMuSK e está sendo considerada para tratamento com IVIg ou troca de plasma (PLEX).

[0224] Recomendações formais para padrões de pesquisa clínicos identificaram uma necessidade de medidas validadas específicas de doença para avaliar respostas terapêuticas em testes clínicos de MG, incluindo medições funcionais relatada por pacientes e de qualidade de vida. Essas recomendações levaram a estudos de validação da pontuação de MG Qualitativa (QMG), Atividades de MG de Perfil de Vivência Diária (MG-ADL) e a pontuação de Compósito de MG (MG-C). Aquelas medições fornecidas no presente documento e nas Figuras 5, 6 e 7, fornecem uma metodologia consistente para avaliar a resposta clínica e incluem resultados centrados em paciente. Essas medições de resultado, particularmente a QMG e MG-ADL, estão sendo usadas como pontos finais primários em testes clínicos para novas terapias de MG

[0225] Consequentemente, em um exemplo, um humano tem um diagnóstico de miastenia grave moderada a severa generalizada, é positivo de autoanticorpo antiAChR e/ou antiMuSK e/ou tem uma pontuação de atividades de miastenia grave de vivência diária (MG-ADL) de pelo menos 3 e/ou uma pontuação de miastenia grave quantitativa (QMG) de pelo menos 11.

[0226] Em um exemplo, um humano tem um diagnóstico de miastenia grave generalizada, é positivo de autoanticorpo antiAChR e/ou antiMuSK, tem uma Classe II a IVa Fundação de Miastenia grave da América (MGFA) e/ou tem uma pontuação de atividades de miastenia grave de vivência diária (MG-ADL) de pelo menos 3 e/ou uma pontuação de miastenia grave quantitativa (QMG) de pelo menos 11.

[0227] O tratamento de MG permanece um problema clínico difícil, necessitando do uso a longo prazo de corticosteroides em alta dose por si só ou combinados com agentes citotóxicos. Muitas das terapias consideradas eficazes em MG têm dados insuficientes para apoiar claramente seu uso, não são eficazes em todos os pacientes e afecções, e têm amplos efeitos imunossupressores causando toxidade considerável e morbidade relacionada a tratamento. Além disso, devido às oscilações naturais no curso da doença, muitos pacientes precisam de um tratamento eficaz para situações agudas exigindo tratamento urgente.

[0228] Tanto PLEX quanto IVIg atualmente são usados como o padrão de cuidado para aprimorar sintomas em situações que exigem tratamento intermitente crônico; no entanto, nem o tratamento é aprovado nos E.U.A para MG, e os procedimentos são frequentemente incômodos para os pacientes. Desse modo, existe uma necessidade médica significativa não atendida nessa população de paciente para um tratamento intermitente crônico eficaz com conveniência aumentada para pacientes com MG generalizado.

[0229] Em um exemplo, tais pacientes não estão mais respondendo a outras terapias, tais como imunossupressores.

[0230] Metas para tratamento in MG são, portanto, para fornecer um tratamento intermitente crônico (para crises de doença) e/ou um tratamento para manutenção a longo prazo.

[0231] Consequentemente, em um exemplo, o método de tratamento da presente invenção pode ser usado para o tratamento intermitente crônico de MG.

[0232] Consequentemente, em um exemplo, o método de tratamento da presente invenção pode ser usado para o tratamento de manutenção a longo prazo de MG.

[0233] Em um exemplo, o método de tratamento da presente invenção pode ser usado tanto para tratamento intermitente crônico quanto para tratamento de manutenção a longo prazo de MG.

REGIMES DE ADMINISTRAÇÃO

[0234] A composição compreende preferencialmente uma quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo (ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo). O termo “quantidade terapeuticamente eficaz” conforme usado no presente documento se refere a uma quantidade de um agente terapêutico necessário para tratar, melhorar ou prevenir uma doença ou condição alvejada, ou para exibir um efeito terapêutico ou preventivo detectável. “Regime e administração” contempla a quantidade (dose) de anticorpo ou fragmento do mesmo administrada assim como temporização de administração se múltiplas doses forem fornecidas.

[0235] Vários métodos de caracterização de MG e eficácia de tratamento existem e são apropriadas para detectar uma resposta biológica possível no indivíduo, e os mesmos são adicionalmente descritos nos Exemplos no presente documento.

[0236] Uma avaliação é a pontuação de Miastenia grave quantitativa (QMG) (Figura 5). A QMG é uma avaliação validada (Barnett et al, 2012), com uma pontuação mais alta que indica doença mais severa. A pontuação para cada item varia de sem fraqueza (0) a fraqueza severa (3), com uma faixa de pontuação geral de 0 a 39. Uma pontuação de 3 pontos na pontuação total é considerada clinicamente relevante.

[0237] Uma avaliação é a pontuação de Atividades de Miastenia grave de Vivência Diária (MG-ADL) (Figura 7). OMGADL é um instrumento de PRO de 8 itens desenvolvido com base na QMG (Wolfe et al,1999). A MGADL alveja sintomas e deficiência através de sintomas oculares, bulbares, respiratórios e axiais. Em um estudo recente, a segurança, validade, e responsividade do MGADL foram adicionalmente avaliados e foi demonstrado que uma melhoria de 2 pontos indica

melhoria clínica (Muppidi, 2012; Muppidi et al, 2011). A pontuação de MGADL total varia de 0 a 24, com uma pontuação mais alta que indica mais deficiência.

[0238] Uma avaliação é a pontuação de Compósito de MG (Figura 6). A escala compósita de MG é uma avaliação validada (Burns et al, 2010 MG Composite and MG-QOL15 Study Group. The MGComposite: A valid and reliable outcome measure for myasthenia grave. Neurology. 4 de maio de 2010;74(18):1434-40.), com uma pontuação mais alta que indica doença mais severa e uma mudança de 3 pontos sendo de relevância clínica. A escala testa 10 itens, com itens individuais sendo pesados de modo diferente. A pontuação geral varia de 0 a 50.

[0239] A eficácia de tratamento para MG pode ser determinada por uma redução (em comparação à linha de base) na pontuação de Atividades de Miastenia grave de Vivência Diária (MG-ADL) e/ou uma redução na pontuação de Miastenia grave quantitativa (QMG) e/ou uma redução na pontuação de compósito de MG, conforme descrito nos exemplos no presente documento.

[0240] A eficácia de tratamento (resposta clínica) é determinada medindo-se uma mudança da Linha de base. Por exemplo, um respondedor de QMG demonstra uma melhoria de ≥ 3,0 pontos a partir da linha de base.

[0241] Em um exemplo, um respondedor de Compósito de MG demonstra uma melhoria de ≥ 3,0 pontos a partir da linha de base.

[0242] Em um exemplo, um respondedor de Compósito de MG demonstra uma melhoria de ≥ 5,0 pontos a partir da linha de base.

[0243] Em um exemplo, um respondedor de MG-ADL demonstra uma melhoria de ≥ 3,0 pontos a partir da linha de base.

[0244] Em um exemplo, um respondedor de MG-ADL demonstra uma melhoria de ≥ 2,0 pontos a partir da linha de base.

[0245] Outras avaliações incluem medir uma redução de níveis de soro de IgG e/ou uma redução em níveis de autoanticorpo específico de MG (antiMuSK e/ou anticorpo antiAChR) em soro.

[0246] Conforme usado no presente documento, “tratar” e “tratamento” se refere a qualquer redução na severidade de MG e “prevenir” ou “prevenção” se refere a

qualquer redução ou atraso de início de sintomas de MG. Um elemento de habilidade comum na técnica verificará que qualquer grau de proteção de, ou melhoramento de MG ou sintoma associado aos mesmos é benéfico a um indivíduo, tal como um paciente humano. A qualidade de vida de um paciente é melhorada reduzindo-se a qualquer grau a severidade de sintomas em um indivíduo e/ou atrasar a aparição de sintomas. Consequentemente, o método em um aspecto é realizado o mais breve possível depois que foi determinado que um indivíduo está sofrendo de ou está em risco de sofrer de MG, em particular, MG generalizada.

[0247] Em vários aspectos, o anticorpo ou fragmento do mesmo é administrado por meio de um regime de administração que atinge uma melhoria de QMG, Compósito de MG ou pontuação de MG-ADL em comparação a pré-tratamento (linha de base). A melhoria de pontuação pode ser observada em, por exemplo, uma, duas, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez, onze, ou doze semanas após administração inicial do anticorpo ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo. Em um exemplo, a melhoria na pontuação em comparação à linha de base é observada no dia 29 ou dia 43 ou dia 50 após a administração inicial do anticorpo ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo.

[0248] Aprimoramentos são conforme definido acima para resposta clínica, por exemplo, uma melhoria pode ser uma melhoria de ≥ 3,0 pontos da pontuação de linha de base, tal como uma melhoria de ≥ 3,0 pontos da pontuação de linha de base de QMG, pontuação de Compósito de MG e/ou de MG-ADL.

[0249] Em um exemplo, uma melhoria pode ser uma melhoria de ≥ 3,0 pontos da pontuação de linha de base, tal como uma melhoria de ≥ 3,0 pontos da pontuação de linha de base de QMG e/ou pontuação de Compósito de MG e/ou de MG-ADL.

[0250] Em um exemplo, uma melhoria pode ser uma melhoria de ≥ 3,0 pontos da pontuação de linha de base, tal como uma melhoria de ≥ 3,0 pontos da pontuação de linha de base de QMG e/ou uma melhoria de ≥ 3,0 pontos da pontuação de linha de base Compósito de MG e/ou uma melhoria de ≥ 2,0 pontos da pontuação de linha de base de MG-ADL.

[0251] Em um exemplo, a pontuação de MG-ADL é melhorada em comparação à

linha de base no dia 43, isto é, a pontuação de MG-ADL é diminuída em pelo menos 2 pontos, por exemplo, pelo menos 3 pontos.

[0252] Em um exemplo, a pontuação de Compósito de MG é melhorada em comparação à linha de base no dia 43, isto é, a pontuação de Compósito de MG é diminuída por pelo menos 3 pontos. Em um exemplo, a pontuação de Compósito de MG é reduzida em pelo menos 4, 5 ou 6 pontos.

[0253] Em um exemplo, a pontuação de QMG é melhorada em comparação à linha de base no dia 43, isto é, a pontuação de QMG é diminuída em pelo menos 2 pontos, por exemplo, pelo menos 3 pontos.

[0254] Alternativa ou adicionalmente, o anticorpo ou fragmento do mesmo é administrado por meio de um regime de administração que alcança uma redução de níveis de soro de IgG e/ou uma redução de níveis de soro de autoanticorpo específico de MG (antiMuSK e/ou anticorpo antiAChR) em comparação a pré-tratamento (linha de base). A redução de níveis pode ser observada em, por exemplo, uma, duas, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez, onze, ou doze semanas após administração inicial do anticorpo ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo. Em um exemplo, a redução de níveis de soro é observada no dia 29 ou dia 43 ou dia 50 após a administração inicial do anticorpo ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo. Os níveis de soro de IgG e/ou níveis de soro de autoanticorpo específico de MG (antiMuSK e/ou anticorpo antiAChR) podem ser reduzidos em pelo menos 50%, pelo menos 55%, pelo menos 60%, pelo menos 65% ou pelo menos 70%, em particular, em comparação à linha de base.

[0255] A quantidade terapeuticamente eficaz precisa para um indivíduo humano dependerá da severidade do estado de doença, da saúde geral do indivíduo, da idade, peso e gênero do indivíduo, dieta, tempo e frequência de administração, combinação (ou combinações) de fármaco, sensibilidades de reação e tolerância/resposta à terapia. Em geral, uma quantidade terapeuticamente eficaz será de 4 mg/kg a 50 mg/kg (por exemplo, 4 mg/kg a 25 mg/kg, tal como cerca de 7 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg ou 20 mg/kg). Composições podem ser convenientemente apresentados em formas de dose unitária que contém uma quantidade predeterminada de um agente

ativo da revelação por dose. Faixas de dose e regimes para qualquer uma das modalidades descritas no presente documento incluem, porém, sem limitação, dosagens que variam de doses unitárias de 1 mg a 1.000 mg (tal como doses unitárias de 100 mg, 140 mg, 160 mg dadas a cada 1 a 10 semanas (em qualquer rota de administração, tal como por qualquer uma administração subcutânea ou intravenosa). Doses unitárias adequadas adicionais podem ser doses na faixa de 250-1250 mg, por exemplo, uma dose selecionada dentre 280 mg, 420 mg, 560 mg, 840 mg e 1.120 mg. Exemplos de outras doses unitárias adequadas podem ser uma dose selecionada dentre 280 mg, 315 mg, 350 mg, 385 mg, 420 mg, 455 mg, 490 mg, 525 mg, 560 mg, 595 mg, 630 mg, 665 mg, 700 mg, 735 mg, 770 mg, 805 mg, 840 mg, 875 mg, 910 mg, 945 mg, 980 mg, 1015 mg, 1050 mg, 1085 mg e 1.120 mg.

[0256] Consequentemente, a presente invenção fornece um método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, sendo que o método compreende administrar ao humano pelo menos três doses, preferencialmente pelo menos seis doses de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que cada dose é independentemente selecionada dentre 4 mg/kg, 7 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg e 20 mg/kg.

[0257] Conforme definido acima, dosagem de unidade fixa também pode ser usada. Em um exemplo, a presente invenção também fornece um método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, sendo que o método compreende administrar ao humano pelo menos três doses, preferencialmente pelo menos seis doses, de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que cada dose é independentemente selecionada dentre 280 mg, 420 mg, 560 mg, 840 mg e 1120 mg e em que a dose é opcionalmente é selecionada com base no tempo do paciente.

[0258] Em um exemplo, a presente invenção também fornece um método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, sendo que o método compreende administrar ao humano pelo menos três doses, preferencialmente pelo menos seis doses, de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que cada dose é selecionada dentre

280 mg, 315 mg, 350 mg, 385 mg, 420 mg, 455 mg, 490 mg, 525 mg, 560 mg, 595 mg, 630 mg, 665 mg, 700 mg, 735 mg, 770 mg, 805 mg, 840 mg, 875 mg, 910 mg, 945 mg, 980 mg, 1015 mg, 1050 mg, 1085 mg e 1120 mg e em que o anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo compreende opcionalmente uma cadeia pesada que compreende a sequência dada na SEQ ID NO:29 e uma cadeia leve que compreende a sequência dada na SEQ ID NO:15. Novamente, a dose pode ser selecionada com base no tempo do paciente.

[0259] Em um exemplo doses unitárias fixas através de camadas de peso corporal podem ser empregadas.

[0260] Por exemplo, 6 doses subcutâneas em 1 intervalos semanais (equivalente a aproximadamente 7 mg/kg)

- Peso corporal < 50 kg: dose a ser administrada 280 mg
- Peso corporal ≥ 50 kg e < 70 kg: dose a ser administrada 420 mg
- Peso corporal ≥ 70 kg e < 100 kg: dose a ser administrada 560 mg
- Peso corporal ≥ 100 kg; dose a ser administrada 840 mg

[0261] Ou

[0262] Por exemplo, 6 doses subcutâneas em 1 intervalos semanais (equivalente a aproximadamente 10 mg/kg)

- Peso corporal < 50 kg: dose a ser administrada 420 mg
- Peso corporal ≥ 50 kg e < 70 kg: dose a ser administrada 560 mg
- Peso corporal ≥ 70 kg e < 100 kg: dose a ser administrada 840 mg
- Peso corporal ≥ 100 kg: dose a ser administrada 1.120 mg

[0263] Em um exemplo, uma dose de unidade fixa equivalente a aproximadamente 7 mg/kg é usada, em um exemplo para um peso corporal de menos do que 50 kg, a dose é 280 mg. Em um exemplo para um peso corporal igual ou maior do que 50 kg, mas menos do que 70 kg, a dose é 420 mg. Em um exemplo para um peso corporal igual ou maior do que 70 kg, mas menos do que 100 kg, a dose é 560 mg. Em um exemplo para um peso corporal igual ou maior do que 100 kg, a dose é 840 mg.

[0264] Consequentemente, em um exemplo, a presente invenção também fornece um método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em

necessidade do mesmo, sendo que o método compreende administrar ao humano pelo menos 3 doses, preferencialmente, pelo menos 6 doses de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que para um peso corporal de menos do que 50 kg, a dose é 280 mg, para um peso corporal igual ou maior do que 50 kg, mas menor do que 70 kg, a dose é 420 mg, para um peso corporal igual ou maior do que 70 kg, mas menor do que 100 kg, a dose é 560 mg e para um peso corporal igual ou maior do que 100 kg, a dose é 840 mg.

[0265] Em um exemplo, uma dose de unidade fixa equivalente a aproximadamente 10 mg/kg é usada, em um exemplo para um peso corporal de menos do que 50 kg, a dose é 420 mg. Em um exemplo para um peso corporal igual ou maior do que 50 kg, mas menos do que 70 kg, a dose é 560 mg. Em um exemplo para um peso corporal igual ou maior do que 70 kg, mas menos do que 100 kg, a dose é 840 mg. Em um exemplo para um peso corporal igual ou maior do que 100 kg, a dose é 1.120 mg.

[0266] Consequentemente, em um exemplo, a presente invenção também fornece um método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, sendo que o método compreende administrar ao humano pelo menos 3 doses, preferencialmente, pelo menos 6 doses de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que para um peso corporal de menos do que 50 kg, a dose é 420 mg, para um peso corporal igual ou maior do que 50 kg, mas menor do que 70 kg, a dose é 560 mg, para um peso corporal igual ou maior do que 70 kg, mas menor do que 100 kg, a dose é 840 mg e para um peso corporal igual ou maior do que 100 kg, a dose é 1.120 mg.

[0267] Em um exemplo, uma dose de unidade fixa para uma camada de peso corporal única de acima ou abaixo de 100 kg é usada. Em um exemplo, uma dose de unidade fixa para um peso corporal de menos do que 100 kg é selecionada dentre 280 mg, 315 mg, 350 mg, 385 mg, 420 mg, 455 mg, 490 mg, 525 mg, 560 mg, 595 mg, 630 mg, 665 mg, 700 mg, 735 mg, 770 mg, 805 mg, 840 mg, 875 mg, 910 mg, 945 mg, 980 mg, 1.015 mg, 1.050 mg, 1.085 mg e 1.120 mg.

[0268] Em um exemplo, uma dose de unidade fixa para um peso corporal de menos do que 100 kg é 420 mg ou 560 mg ou 840 mg.

[0269] Consequentemente, em um exemplo a presente invenção também fornece um método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, sendo que o método compreende administrar ao humano pelo menos 3 doses, preferencialmente pelo menos 6 doses, de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que, para um peso corporal de menos do que 100 kg, a dose é selecionada dentre 280 mg, 315 mg, 350 mg, 385 mg, 420 mg, 455 mg, 490 mg, 525 mg, 560 mg, 595 mg, 630 mg, 665 mg, 700 mg, 735 mg, 770 mg, 805 mg, 840 mg, 875 mg, 910 mg, 945 mg, 980 mg, 1015 mg, 1.050 mg, 1.085 mg e 1.120 mg.

[0270] Em um exemplo, uma dose de unidade fixa para um peso corporal igual ou maior do que 100 kg é selecionada dentre 280 mg, 315 mg, 350 mg, 385 mg, 420 mg, 455 mg, 490 mg, 525 mg, 560 mg, 595 mg, 630 mg, 665 mg, 700 mg, 735 mg, 770 mg, 805 mg, 840 mg, 875 mg, 910 mg, 945 mg, 980 mg, 1.015 mg, 1.050 mg, 1.085 mg e 1.120 mg.

[0271] Em um exemplo, uma dose de unidade fixa para um peso corporal igual ou maior do que 100 kg é 840 mg ou 1.120 mg.

[0272] Consequentemente, em um exemplo a presente invenção também fornece um método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, sendo que o método compreende administrar ao humano pelo menos 3 doses, preferencialmente pelo menos 6 doses, de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que, para um peso corporal igual ou maior do que 100 kg, a dose é selecionada dentre 280 mg, 315 mg, 350 mg, 385 mg, 420 mg, 455 mg, 490 mg, 525 mg, 560 mg, 595 mg, 630 mg, 665 mg, 700 mg, 735 mg, 770 mg, 805 mg, 840 mg, 875 mg, 910 mg, 945 mg, 980 mg, 1.015 mg, 1.050 mg, 1.085 mg e 1.120 mg.

[0273] Em um exemplo, a presente invenção também fornece um método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, sendo que o método compreende administrar ao humano pelo menos 3 doses, preferencialmente pelo menos 6 doses, de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que, para um peso corporal de menos

do que 100 kg, a dose é 420 mg ou 560 mg ou 840 mg e para um peso corporal igual ou maior do que 100 kg, a dose é 8.40 mg ou 1.120 mg.

[0274] Em um exemplo, a presente invenção também fornece um método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, sendo que o método compreende administrar ao humano pelo menos 3 doses, preferencialmente pelo menos 6 doses, de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que, para um peso corporal de menos do que 100 kg, a dose é 420 mg ou 560 mg e para um peso corporal igual ou maior do que 100 kg, a dose é 840 mg ou 1.120 mg.

[0275] Em um exemplo, uma dose de anticorpo ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo é administrado a cada semana, por exemplo, a cada semana por pelo menos 3 semanas. Em um exemplo, uma dose de anticorpo é administrada a cada semana por pelo menos cinco ou seis semanas. O período de tratamento (isto é, o período de tempo durante o qual uma ou mais doses de anticorpo são administradas a um indivíduo) pode compreender pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas ou mais. Qualquer número adequado de doses pode ser administrado dentro do período de tratamento, tal como as doses e tempo entre administrações descritas no presente documento. Por exemplo, seis doses de anticorpo podem ser administradas a um indivíduo por, por exemplo, um período de tratamento de 5 semanas (semana 0, semana 1, semana 2, semana 3, semana 4 e semana 5).

[0276] Desse modo, em um aspecto, é fornecido um método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, sendo que o método compreende administrar ao humano pelo menos 3 doses de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que cada dose é independentemente selecionada dentre 4 mg/kg, 7 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg e 20 mg/kg.

[0277] Em um exemplo, cada dose é 4 mg/kg, por exemplo, administrada como seis doses individuais, em particular, seis doses individuais por seis semanas

consecutivas.

[0278] Em um exemplo, cada dose é 7 mg/kg, por exemplo, administrada como seis doses individuais, em particular, seis doses individuais por seis semanas consecutivas.

[0279] Em um exemplo, cada dose é 10 mg/kg, por exemplo, administrada como seis doses individuais, em particular, seis doses individuais por seis semanas consecutivas.

[0280] Em um exemplo, cada dose é 15 mg/kg, por exemplo, administrada como seis doses individuais, em particular, seis doses individuais por seis semanas consecutivas.

[0281] Em um exemplo, cada dose é 20 mg/kg, por exemplo, administrada como seis doses individuais, em particular, seis doses individuais por seis semanas consecutivas.

[0282] Conforme definido acima, dosagem de unidade fixa também pode ser empregada, e por exemplo, cada dose pode ser uma dose selecionada dentre 280 mg, 315 mg, 350 mg, 385 mg, 420 mg, 455 mg, 490 mg, 525 mg, 560 mg, 595 mg, 630 mg, 665 mg, 700 mg, 735 mg, 770 mg, 805 mg, 840 mg, 875 mg, 910 mg, 945 mg, 980 mg, 1.015 mg, 1.050 mg, 1.085 mg e 1.120 mg, administrada como seis doses individuais, em particular, seis doses individuais por seis semanas consecutivas.

[0283] Em um exemplo, cada dose é 280 mg, por exemplo, administrada como seis doses individuais, em particular, seis doses individuais por seis semanas consecutivas.

[0284] Em um exemplo, cada dose é 420 mg, por exemplo, administrada como seis doses individuais, em particular, seis doses individuais por seis semanas consecutivas.

[0285] Em um exemplo, cada dose é 560 mg, por exemplo, administrada como seis doses individuais, em particular, seis doses individuais por seis semanas consecutivas.

[0286] Em um exemplo, cada dose é 840 mg, por exemplo, administrada como seis doses individuais, em particular, seis doses individuais por seis semanas

consecutivas.

[0287] Em um exemplo, cada dose é 1.120 mg, por exemplo, administrada como seis doses individuais, em particular, seis doses individuais por seis semanas consecutivas.

[0288] Conforme descrito no presente documento acima, a dosagem de unidade fixa pode ser baseada em camadas de peso, com a dose selecionada baseada em camada de peso que é administrada, por exemplo, semanalmente por pelo menos seis semanas consecutivas. Conforme descrito acima, por exemplo, uma dose de 280 mg é usada para um peso de menos do que 50 kg.

[0289] Em um exemplo o método emprega um intervalo de dosagem entre a terceira e a quarta doses. Em um exemplo, o intervalo de dosagem é de 1 semana. Em um exemplo, o intervalo de dosagem é de 2 semanas.

[0290] Opcionalmente, o método emprega uma estratégia de administração de dose repetida com regimes de dosagem diferente que envolve uma dosagem inicial mais alta (isto é, uma “dose de carregamento”) seguida por uma ou mais doses inferiores (isto é, uma ou mais segundas doses ou doses adicionais que são menores do que a dose inicial (“doses de manutenção”)), embora uma dose de carregamento inferior seguida por doses de manutenção mais altas também são contempladas. Em uma modalidade, as doses de manutenção podem ser um quarto, um terço, uma metade, dois terços, três quartos, o mesmo que, uma e um quarto, uma e um terço, uma e uma metade, uma e dois terços, uma e três quartos, dupla, ou mais da dose de carregamento. Um regime de dose múltipla sem uma dose de carregamento também é contemplado como parte da revelação.

[0291] Em uma modalidade, uma ou mais doses de manutenção são administradas em um intervalo após a administração de uma dose de carregamento. Esse intervalo pode ser consistente para cada dose ou pode variar. Esse intervalo pode ser 1 dia, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, mensal, 6 semanas, 8 semanas, a cada dois meses, ou em qualquer outro intervalo.

[0292] Consequentemente, em um exemplo, o método de tratamento da presente invenção compreende adicionalmente administrar um ou mais segundas doses ou

doses adicionais que são menores do que a dose (ou doses) inicial.

[0293] Será verificado que essas doses adicionais podem ser administradas além do período de tratamento inicial para a “dose de carregamento” mais alta.

[0294] Consequentemente, em um exemplo, a dosagem inicial por um período de tratamento de preferencialmente 4 a 6 semanas, pode ser seguido por um período de tratamento de dosagem manutenção adicional em uma dose inferior e/ou menor frequência de dosagem.

[0295] Em um exemplo, cada dose é 7 mg/kg, por exemplo, administrada como seis doses individuais por seis semanas consecutivas, opcionalmente seguida por mais uma dose adicional.

[0296] Em um exemplo, cada dose é 10 mg/kg, por exemplo, administrada como seis doses individuais por seis semanas consecutivas, opcionalmente seguida por mais uma dose adicional.

[0297] Em um exemplo, as doses adicionais são doses de "manutenção" inferiores. Em um exemplo, cada dose (“de manutenção”) inferior é entre 4 e 10 mg/Kg, preferencialmente 4 ou 7 mg/Kg.

[0298] Em um exemplo, cada dose (“de manutenção”) inferior é entre 4 e 20 mg/Kg, preferencialmente 7 ou 10 mg/Kg, dada menos frequentemente do que as doses de "carregamento" iniciais, por exemplo, menos frequentemente do que semanalmente por exemplo, a cada 2 ou 4 semanas ou mensalmente.

[0299] Conforme definido acima, essas doses de manutenção podem ser dadas em qualquer intervalo adequado, tal como 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, mensalmente, 6 semanas, 8 semanas, a cada dois meses, ou em qualquer outro intervalo.

[0300] Em um exemplo, uma dose de manutenção é dada em um intervalo de cada semana.

[0301] Em um exemplo, uma dose de manutenção é dada em um intervalo de cada 2 semanas.

[0302] Em um exemplo, uma dose de manutenção é dada em um intervalo de cada 4 semanas.

[0303] Em um exemplo, uma dose de manutenção é dada mensalmente.

[0304] Em um exemplo, a dosagem inicial mais alta (dose de carregamento) compreende tratamento com 6 doses de 4 mg/Kg ou 7 mg/Kg ou 10 mg/kg ou 15 mg/kg ou 20 mg/kg em intervalos semanais por um primeiro período de tratamento e dosagem de manutenção pode compreender dosagem a 4 mg/Kg ou 7 mg/Kg em um intervalo adequado tal como a cada 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, mensalmente, 6 semanas, 8 semanas, a cada dois meses, ou em qualquer outro intervalo.

[0305] Em um exemplo, a dosagem inicial mais alta (dose de carregamento) compreende tratamento com 6 doses de 4 mg/Kg ou 7 mg/Kg ou 10 mg/kg ou 15 mg/kg ou 20 mg/kg em intervalos semanais por um primeiro período de tratamento e dosagem de manutenção pode compreender dosagem a 4 mg/Kg ou 7 mg/Kg ou 10 mg/Kg em um intervalo adequado, tal como a cada 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, mensalmente, 6 semanas, 8 semanas, a cada dois meses, ou em qualquer outro intervalo.

[0306] Em um exemplo, a dosagem inicial mais alta (dose de carregamento) compreende tratamento com 6 doses de 10 mg/kg em intervalos semanais por um primeiro período de tratamento de seis semanas e dosagem de manutenção pode compreender dosagem a 7 mg/kg em um intervalo adequado, tal como a cada semana, a cada 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, mensalmente, 6 semanas, 8 semanas, a cada dois meses, ou em qualquer outro intervalo.

[0307] Em um exemplo, a dosagem inicial mais alta (dose de carregamento) compreende tratamento com 6 doses de 10 mg/kg em intervalos semanais por um primeiro período de tratamento de seis semanas e dosagem de manutenção pode compreender dosagem a 10 mg/kg em um intervalo menos frequente adequado tal como a cada 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, mensalmente, 6 semanas, 8 semanas, a cada dois meses, ou em qualquer outro intervalo.

[0308] Conforme definido acima, a dosagem de unidade fixa também pode ser usada na presente invenção, opcionalmente baseada em camadas de peso corporal conforme descrito no presente documento acima. Em um exemplo, a dosagem inicial

mais alta (dose de carregamento) compreende tratamento com 6 doses de 280 mg ou 420 mg ou 560 mg ou 840 mg ou 1.120 mg, opcionalmente baseada em camada de peso corporal, em intervalos semanais por um primeiro período de tratamento e dosagem de manutenção pode compreender (i) dosagem em uma dose inferior em um intervalo adequado, tal como a cada semana, a cada 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, mensalmente, 6 semanas, 8 semanas, a cada dois meses, ou em qualquer outro intervalo ou (ii) dosagem da mesma dose com menos frequência.

[0309] O método de tratamento da presente invenção pode ser adequado tanto para tratamento intermitente crônico quanto/como para terapia de manutenção.

[0310] Será verificado que a frequência de dosagem pode ser determinada por severidade de doença, determinada, por exemplo, por monitoramento de biomarcador de doença e/ou monitorando-se paciente níveis de soro de autoanticorpo específico de MG (antiMuSK e/ou anticorpo antiAChR) e/ou níveis de IgG de soro.

[0311] A temporização entre administrações pode diminuir à medida que a afecção melhora ou aumentar se a mesma piorar, revertendo às doses mais altas conforme necessário para episódios agudos.

[0312] A temporização de administração também pode ser determinada monitorando-se a titulação de anticorpo antiAChR do paciente e/ou titulação antiMuSK e/ou níveis de IgG de soro.

[0313] Autoanticorpos envolvidos na patogênese de MG pode incluir tanto IgG quanto isotipos não IgG. Em um exemplo, o método de tratamento da presente revelação pode ser usado para o tratamento de pacientes com MG em que IgG é determinado para ser o isotipo dominante.

[0314] Compreender no contexto do presente relatório descritivo se destina a significar incluindo.

[0315] Onde for tecnicamente apropriado, modalidades da invenção podem ser combinadas.

[0316] Modalidades são descritas no presente documento como compreendendo determinados recursos/elementos. A revelação também se estende a modalidades separadas que consistem ou consistem essencialmente nos ditos

recursos/elementos.

[0317] Referências técnicas tais como patentes e pedidos são incorporados ao presente documento a título de referência.

[0318] A presente invenção é adicionalmente descrita a título de ilustração somente nos exemplos a seguir, que se referem às Figuras anexas, nas quais:

[0319] A Figura 1 mostra determinadas sequências de aminoácidos e polinucleotídeos.

[0320] A Figura 2 projeto de estudo MG0002 (SubQ; UCB7665)

[0321] A Figura 3 Mudança da linha de base em pontuação de MG-ADL (rozanolixizumab 7 mg/kg/ rozanolixizumab 4 mg/kg) e (rozanolixizumab 7 mg/kg/ rozanolixizumab 7 mg/kg)

[0322] A Figura 4 Mudança da linha de base em QMG, Compósito de MG, pontuações de MG-ADL, concentrações de IgG e anticorpo antiAChR (rozanolixizumab 7 mg/kg/ rozanolixizumab 7 mg/kg)

[0323] A Figura 5 Forma de teste de Miastenia grave quantitativo

[0324] A Figura 6 Pontuação de Compósito de Miastenia grave

[0325] A Figura 7 Atividades de Miastenia grave de Pontuação de Vivência Diária (MG-ADL)

EXEMPLOS

EXEMPLO 1:

[0326] UCB7665 foi primeiro descrito no documento nº WO2014019727 e compreende as sequências de CDR fornecidas no presente documento na SEQ ID NOs 1-6. A mesma compreende a cadeia leve da SEQ ID NO:22 e a cadeia pesada da SEQ ID NO: 43.

[0327] UCB7665 tem o rozanolixizumab INN.

Afinidade para ligação de hFcRn de UCB 7665 (reproduzido do documento nº WO2014019727)

[0328] A análise de interação biomolecular com uso de tecnologia de ressonância de plasmon de superfície (SPR) foi realizada em um sistema de Biacore T200 (GE Healthcare) e se ligando ao domínio extracelular de FcRn humano determinado. O

domínio extracelular de FcRn humano foi fornecido como um complexo não covalente entre o domínio extracelular de cadeia alfa de FcRn humano (SEQ ID NO:94) e microglobulina β2 (β2M) (SEQ ID NO:95). Anti-IgG humano de cabra de fragmento de $F(ab')_2$ Affinipure, $F(ab')_2$ fragmento específico (para captura de Fab'-PEG) ou fragmentos Fc específicos (para captura de IgG1 ou IgG4) (Jackson ImmunoResearch Lab, Inc.) em 10 mM NaAc, tampão de pH 5 foi imobilizado em um Chip de Sensor CM5 por meio de química de acoplamento de amina a um nível de captura entre 4.000 a 5.000 unidades de resposta (RU) com uso de HBS-EP$^+$ (GE Healthcare) como o tampão de execução. 50 mM de Fosfato, pH 6 + 150 mM de NaCl + P20 ou HBS-P a 0,05%, pH 7,4 (GE Healthcare) foi usado como o tampão de execução para o ensaio de afinidade. O anticorpo foi diluído para 4µg/ml (IgG4) em tampão de execução. Uma injeção de 60s de IgG4 a 10µl/min foi usado para captura pelo anti-IgG humano imobilizado, $F(ab')_2$. O domínio extracelular de FcRn humano foi titulado a partir de 20 nM a 1,25 nM através do anticorpo capturado antiFcRn por 300 s a 30µl/min seguido por dissociação de 1.200s. A superfície foi regenerada por 2 x 60 s 50 mM de HCl a 10µl/min.

[0329] Os dados foram analisados com uso de software de avaliação de T200 (versão 1.0).

pH 7,4

1519.g57	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	KD (M)	KD (pM)
IgG4P	3,68E+05	1,26E-05	3,43E-11	34

pH 6

1519.g57	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	KD (M)	KD (pM)
IgG4P	4,43E+05	1,00E-05	2,26E-11	23

[0330] Os dados de afinidade para IgG4P 1519.g57 anti-hFcRn em pH 7,4 e pH 6

[0331] (média de três experimentos)

Cristalografia e epítopo de ligação de UCB7665 (reproduzido a partir do documento

WO2014019727)

[0332] A estrutura cristalina de Fab' 1519g57 e domínio extracelular de FcRn humano desglicolisado (domínio extracelular de cadeia alfa (SEQ ID NO:94) em associação com microglobulina beta2 SEQ ID NO:95) foi determinado, com o oligossacarídeo FcRn excluído de modo a facilitar a cristalização. Fab' 1519.g57 foi reagido com excesso molar de 10 vezes de maleimida de N-etila para prevenir a formação de diFab' e qualquer diFab' existente removido por SEC (S200 em Akta FPLC). O domínio extracelular de FcRn humano foi tratado por PNGaseF para remover açúcares vinculados a N. Para isso, a concentração de amostra FcRn foi ajustada com uso de PBS (pH 7,4) a 5 mg/ml e um volume total de 1 ml. 200 unidades de PNGaseF (Roche) foi adicionado a essa solução de FcRn humano. Isso foi incubado a 37 °C por ~18 horas, seguido qual a extensão de desglicolização foi verificada com uso de SDS PAGE. Mediante a conclusão da reação, o FcRn desglicolisado foi trocado por tamponamento em 50 mM de Acetato de Sódio, 125 mM de NaCl, pH 6,0.

[0333] O complexo foi formado por incubação de uma mistura de reagentes (Fab':FcRn::1.2:1, p/p) em temperatura ambiente por 60 minutos, e então purificado com uso de SEC (S200 com uso de Akta FPLC). Triagem foi realizada com uso das várias condições que foram disponíveis junto à Qiagen (aproximadamente 2.000 condições). A incubação e imageamento foi realizada por Formulatrix Rock Imager 1.000 (por um período de incubação total de 21 dias).

[0334] Não houve mudança óbvia em estrutura de FcRn mediante ligação de Fab' 1519g57 (comparando esse complexo com estruturas publicadas de FcRn). A partir da estrutura cristalina, o teor de estrutura secundária foi calculado para ser: hélice α 9,4%; lâmina β 45,2%; 3 a 10 voltas 2,5%.

[0335] Os resíduos que interagem com Fab' 1519g57 estavam todos na cadeia FcRn α (não β2M) e são indicados abaixo em negrito. Os resíduos em questão abrangem todos, exceto 1 dos resíduos cruciais para ligação de Fc. 1519g57 se liga em uma região que sobrepõe a região de ligação de Fc, sugerindo que o bloqueio de FcRn por Fab' 1519g57 é pela simples competição, sendo que o antiFcRn é eficaz em

virtude de sua afinidade superior.

[0336] AESHLSLLYH LTAVSSPAPG TPAFWVSGWL GPQQYLSYNS LRGEAEPCGA WVWENQVSWY WEKETTDLRI KEKLFLEAFK ALGGKGPYTL QGLLGCELGP DNTSVPTAKF ALNGEEFMNF DLKQGTWGGD WPEALAISQR WQQQDKAANK ELTFLLFSCP HRLREHLERG RGNLEWKEPP SMRLKARPSS PGFSVLTCSA FSFYPPELQL RFLRNGLAAG TGQGDFGPNS DGSFHASSSL TVKSGDEHHY CCIVQHAGLA QPLRVELESPAKSS

[0337] A sequência de cadeia FcRn α, que mostra resíduos envolvidos na interação com Fab' 1519g57 (negrito) e resíduos cruciais para interação com Fc de IgG (sublinhada). Todos exceto 1 da última são incluídas na primeira.

EXEMPLO 2:

[0338] O estudo MG0002 é um estudo de sequência de tratamento de dose repetida, de 2 braços, controlado por placebo, com ocultação de investigador e indivíduo, randomizado e de múltiplos centros de fase 2a que avaliará a eficácia, segurança, e tolerabilidade de tratamento intermitente crônico com UCB7665 em indivíduos com miastenia grave moderada a severa generalizada (MG). UCB7665 será administrado como doses subcutâneas (sc) de 4 mg/kg ou 7 mg/kg, em indivíduos ≥18 anos de idade.

[0339] O estudo é planejado para ser conduzido em aproximadamente 30 sítios nos Estados Unidos da América (E.U.A), Canadá, e Europa, com possível extensão a outras regiões e países. Um total de 42 indivíduos são planejados para entrar no Período de Tratamento no estudo. A duração de estudo máxima para um indivíduo individual é de aproximadamente 18 semanas.

[0340] O estudo consistirá em 3 períodos: Triagem, Tratamento e Observação. Após a Triagem, indivíduos entrarão no Período de Tratamento, que consistirá em Período de Dosagem 1 seguido por Período de Dosagem 2. Indivíduos receberão 3 doses de produto medicinal investigacional (IMP) em intervalos semanais durante cada período de dosagem da seguinte maneira:

[0341] Período de Dosagem 1 será 4 semanas, com 2 braços paralelos (UCB7665 7 mg/kg ou placebo).

[0342] Período de Dosagem 2 será 2 semanas, com 2 braços de tratamento paralelos (UCB7665 7 mg/kg ou UCB7665 4 mg/kg).

[0343] O Período de Observação transcorrerá por 8 semanas após a dose final de UCB7665, com uma Visita Final (FV) sendo programada na Visita 20. As infusões sc durarão aproximadamente 30 minutos, e indivíduos serão necessários para retenção no hospital/clínica pelo menos 4 horas para monitoramento de segurança após cada infusão.

[0344] A variável de eficácia primária será a mudança a partir da linha de base em pontuação de MG (QMG) quantitativa à Visita 9 (Dia 29). As variáveis de eficácia secundária serão a mudança a partir da linha de base na pontuação de Compósito de MG à Visita 9 (Dia 29) e a mudança a partir da linha de base em pontuação de Atividades de MG de Vivência Diária (MGADL) à Visita 9 (Dia 29). Outras variáveis de eficácia serão as seguintes:

valor e mudança a partir da linha de base em QMG em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação; respondedor de QMG (melhoria de ≥ 3,0 pontos a partir da linha de base) em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação; valor e mudança a partir da linha de base na pontuação de Compósito de MG em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação;

respondedor de Compósito de MG (melhoria de ≥ 3,0 pontos a partir da linha de base) em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação; valor e mudança a partir da linha de base in MGADL em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação; MGADL responder (melhoria de ≥ 3,0 pontos a partir da linha de base) em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação; classificação de Fundação de Miastenia grave da América (MGFA) em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação; valor e mudança a partir da linha de base em severidade de fraqueza muscular de MG,

escalas de fadiga e pontuações de Índice de deficiência de Miastenia grave (MGII) em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação;

e mudança de deficiência consecutiva média (MCD) em instabilidade (estudos de eletromiografia de fibra única [SFEMG]) da linha de base à Visita 9 para os indivíduos que consentem a essa medição em sítios de participação.

[0345] Outras variáveis e variáveis exploratórias incluem: variáveis de segurança e tolerabilidade, variáveis de farmacocinética (PK), farmacodinâmica (PD) e imunológica.

[0346] Variáveis de segurança e tolerabilidade incluem o seguinte: ocorrência de eventos adversos emergentes de tratamento (TEAEs); valores e mudança de sinal vital a partir da linha de base (pressão sanguínea sistólica e diastólica [BP], temperatura, taxa de pulso, taxa respiratória, e peso corporal); valores de eletrocardiograma de 2 fios (ECG) e mudança a partir da linha de base; valores laboratoriais (hematologia, química clínica, e urinálise) e mudanças a partir da linha de base; mudança a partir da linha de base em biomarcadores de segurança exploratória (pode incluir porém, sem limitação proteína B de ligação de cálcio S100 [S100B], enolase específica de neurônio, prostaglandinas e/ou seus metabólitos, serotonina, e triptase) em indivíduos que experimentam dor de cabeça severa e/ou distúrbio gastrointestinal (GI) moderado a severo; e TEAEs causando a suspensão de IMP.

[0347] A concentração de plasma de UCB7665 ao longo do tempo será avaliada como a variável de PK. As variáveis de PD principais serão a diminuição máxima a partir da linha de base em concentração de imunoglobulina G (IgG) total de soro; valor e mudança a partir da linha de base em concentrações de IgG de soro total em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação; valor e mudança a partir da linha de base em concentrações de subclasse de IgG de soro em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação; e mudança de níveis de autoanticorpo específico de MG (antiMuSK/antiAChR) em soro

da linha de base em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação. Adicionalmente, mudança a partir da linha de base em outras variáveis imunológicas e outros biomarcadores exploratórios durante os períodos de Tratamento e Observacionais serão avaliados.

VARIÁVEIS DE ESTUDO

[0348] 1 Variáveis de Eficácia

[0349] 1.1 Variável de eficácia primária

[0350] A variável de eficácia primária é:

[0351] Mudança a partir da linha de base na pontuação de QMG à Visita 9 (Dia 29)

[0352] 1.2 Variável de eficácia secundária

[0353] As variáveis de eficácia secundária são:

[0354] Mudança a partir da linha de base na pontuação de Compósito de MG à Visita 9 (Dia 29)

[0355] Mudança a partir da linha de base na pontuação de MGADL à Visita 9 (Dia 29)

[0356] 1.3 Outras variáveis de eficácia

[0357] As outras variáveis de eficácia são:

[0358] Valor e mudança a partir da linha de base em QMG em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação

[0359] Respondedor de QMG (melhoria de ≥ 3,0 pontos a partir da linha de base) em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação

[0360] Valor e mudança a partir da linha de base na pontuação de Compósito de MG em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação

[0361] Respondedor de Compósito de MG (melhoria de ≥ 3,0 pontos a partir da linha de base) em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação

[0362] Valor e mudança a partir da linha de base em MGADL em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação

[0363] Respondedor de MGADL (melhoria de ≥ 3,0 pontos a partir da linha de

base) em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação

[0364] Classificação de MGFA em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação

[0365] Valor e mudança a partir da linha de base em fraqueza muscular de MG e capacidade de fadiga em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação

[0366] Valor e mudança a partir da linha de base in fatigue em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação

[0367] Valor e mudança a partir da linha de base nas pontuações de MGII em cada avaliação programada durante os períodos de Tratamento e Observação

[0368] Mudança na porcentagem de pares de fibra normais em estudos de instabilidade (SFEMG) da linha de base à Visita 9 para os indivíduos que consentem para essa medição nos sítios de participação

[0369] Mudança de MCD do intervalo interpotencial (IPI) em estudos de instabilidade (SFEMG) da linha de base à Visita 9 para os indivíduos que consentem para essa medição nos sítios de participação

[0370] Uma redução de MCD de ≥9μs em estudos de instabilidade (SFEMG) definirá melhoria clínica

PROJETO DE ESTUDO

Descrição de estudo

[0371] Esse é um estudo de sequência de tratamento de dose repetida, de 2 braços, controlado por placebo, com ocultação de investigador e indivíduo, randomizado e de múltiplos centros de fase 2a, avaliando a segurança e eficácia de UCB7665 como um tratamento intermitente crônico para indivíduos com MG moderada a severa generalizado.

[0372] Aproximadamente 42 indivíduos randomizados serão cadastrados em aproximadamente 30 sítios dos E.U.A, Canadá, e Europa para alcançar o número alvejado de 40 indivíduos avaliáveis.

[0373] A duração máxima do estudo por indivíduo é aproximadamente 18

semanas, consistindo em um Período de Triagem (1 a 28 dias), Período de Tratamento (6 semanas), e um Período de Observação (8 Semanas).

[0374] Período de Triagem: O propósito do Período de Triagem é avaliar e confirmar a elegibilidade do indivíduo. Durante a Visita de Triagem (Visita 1), indivíduos assinarão uma forma de Consentimento Informado por escrito antes da condução de quaisquer procedimentos relacionados a estudos. O uso de medicação concomitante durante o estudo será discutido e a elegibilidade dos indivíduos será determinada com base nos critérios de inclusão/exclusão. O Período de Triagem não deve exceder 28 dias no total.

[0375] Período de Tratamento: O Período de Tratamento consistirá em Período de Dosagem 1 seguido por Período de Dosagem 2 (Consultar a Figura 2). Indivíduos receberão 3 doses de IMP em intervalos semanais durante cada período de dosagem conforme a seguir.

[0376] Período de Dosagem 1 será de 4 semanas, com 2 Grupos de Tratamento paralelos (UCB7665 7 mg/kg ou placebo).

[0377] Período de Dosagem 2 será de 2 semanas, com 2 Grupos de Tratamento paralelos (UCB7665 7 mg/kg ou UCB7665 4 mg/kg).

[0378] Antes de receber uma infusão com IMP, indivíduos serão avaliados para medições de eficácia em cada visita no Período de Tratamento. Para toda a segurança e medições de eficácia, a ordem especificada no Study Procedures Manual é recomendada para ser usada como um guia.

[0379] Período de Dosagem 1: O Período de Dosagem 1 durará para aproximadamente 4 semanas (Dia 1 ao Dia 28) e inclui as Visitas 2, 3, 4, 5, 6, 7, e 8. Seguindo a conclusão do Período de Triagem, produtos elegíveis terão verificação na clínica/hospital para a Visita de Randomização (Visita 2). Indivíduos que continuam a cumprir requisitos de elegibilidade serão randomizados em 1:1 para receber 7 mg/kg de UCB7665 ou placebo, administrado por uma infusão sc de aproximadamente 30 minutos em intervalos semanais por 3 semanas (Visitas 2, 4, e 6) seguido por uma visita de avaliação na Semana 4 (Visita 8). Nas Visitas 2, 4, e 6 no Período de Dosagem 1, será necessário que os indivíduos permaneçam na clínica/hospital para

pelo menos 4 horas para monitoramento de segurança após a infusão. Indivíduos deixarão a clínica/hospital uma vez que o período pós-dose de monitoramento de segurança terminou e o investigador ou mandatário não tem questões de segurança. Uma chamada de acompanhamento por telefone será conduzida 24 horas após a dose para avaliar a situação do indivíduo (Visitas 3, 5, e 7). Indivíduos retornarão para a clínica/hospital na Visita 8 para avaliações de segurança e eficácia. O ponto final de eficácia primária, mudança a partir da linha de base na pontuação de QMG, será avaliado no início do Período de Dosagem 2 na Visita 9 (Dia 29) antes da nova randomização. As avaliações de eficácia que são realizadas na Visita 9, portanto, ocorrerão 2 semanas após a dose final do fármaco de estudo no Período de Dosagem 1.

[0380] Período de Dosagem 2: O Período de Dosagem 2 durará para aproximadamente 2 semanas (Dia 29 ao Dia 43) e inclui Visita 9, 10, 11, 12, 13, e 14. Indivíduos retornarão para a clínica para Visita 9, 11, e 13 para segurança e avaliações de eficácia na Visita 9, após a administração de segurança e avaliações de eficácia, indivíduos inicialmente randomizados na Linha de Base para placebo ou para 7 mg/kg de UCB7665 serão novamente aleatorizados 1:1 para receber tanto 3 doses de 7 mg/kg como 3 doses de 4 mg/kg administrados por uma infusão de sc de 30 minutos em intervalos semanais (Visita 9, 11, e 13). A tecnologia de resposta interativa (IRT) estratificará a nova randomização com base no tratamento recebido no Período de Dosagem 1. Em cada visita semanal à clínica no Período de Dosagem 2 (Visitas 9, 11, e 13), será necessário que os indivíduos permaneçam na clínica/hospital pelo período de pelo menos 4 horas pós-dose de monitoramento de segurança conforme determinado. Indivíduos deixarão a clínica/hospital uma vez que o período pós-dose de monitoramento de segurança terminou e o investigador ou mandatário não tem questões de segurança. Uma chamada de acompanhamento por telefone será conduzida 24 horas após a dose para avaliar a situação do indivíduo (Visitas 10, 12, e 14).

[0381] Período de Observação: Todos os indivíduos precisam ser acompanhados por 8 semanas após a dose final of IMP ser administrada. Indivíduos retornarão para

a clínica para Visitas 15, 16, 18, e 20 para avaliações de eficácia e para avaliações de segurança. Indivíduos tanto retornarão para a clínica/hospital, como, se possível e estiver de acordo tanto pelo investigador quanto pelo indivíduo, têm visitas em domicílio conduzidas por profissionais certificados de cuidados com a saúde, para Visitas 17 e 19. O Período de Observação começa no dia após a dose final of IMP (isto é, Visita 13, Dia 43); Visita 15 (Dia 50) é a primeira visita no Período de Observação.

Critérios de Inclusão

[0382] Para ser elegível a participar nesse estudo, todos os critérios a seguir precisam ser atendidos:

1. Uma forma de Consentimento Informado por escrito aprovada pelo Junta Institucional de Revisão (IRB)/Comitê de Ética Independente (IEC) é assinado e datado pelo indivíduo.
2. O indivíduo tem ≥18 anos de idade na Visita 1 (Triagem).
3. O indivíduo tem um diagnóstico documentado de MG na Visita 1 (Triagem), com base no histórico do indivíduo e apoiado por avaliações anteriores.
4. O indivíduo seria atualmente considerado para tratamento com terapia imunológica (por exemplo, IVIG/PLEX) pelo investigador.
5. O indivíduo tem um registro documentado de autoanticorpos contra AChR ou MuSK antes da Visita 1 (Triagem).
6. Indivíduos femininos com potencial de terem filhos precisam ter um teste de gravidez de soro negativo na

[0383] Visita de Triagem, que é confirmada para ser negativa por teste de urina antes da primeira dose de fármaco de estudo na Semana 1 (Visita 2) e antes da dosagem a cada visita de estudo em seguida.

[0384] Indivíduos femininos com potencial de terem filhos precisam concordar em usar um método altamente eficaz de controle de natalidade, durante o estudo e por um período de 2 meses após sua dose final do fármaco de estudo.

[0385] De acordo com o Conselho Internacional para Harmonização (ICH) M3

(R2), formas altamente eficazes de controle de natalidade são métodos que atingem uma taxa de falha de menos do que 1% por ano quando usadas de modo consistente e correto. Métodos altamente eficazes de controle de natalidade incluem:

Contracepção hormonal combinada (contendo estrogênio e progesterona) (oral, implante, injetável) associada à inibição de ovulação, (que precisa ser estável por pelo menos 1 mês inteiro antes da Triagem [Visita 1], e deve permanecer estável durante o estudo).

Contraceptivos hormonais somente de progesterona (oral, implante, injetável) associada à inibição de ovulação, (que precisa ser estável por pelo menos 1 mês inteiro antes da Triagem [Visita 1], e deve permanecer estável durante o estudo).

Sistemas intrauterinos que liberam progesterona ou o dispositivo Intrauterino TCu 380A. Parceiro Vasectomizado (parceiro solo fornecido e parceiro tem prova médica de sucesso cirúrgico).

Abstinência sexual heterossexual verdadeira é uma forma aceitável de contracepção quando isso é alinhado com o estilo de vida preferencial e usual da pessoa. Abstinência periódica (por exemplo, calendário, ovulação, sintotermal, métodos pós-ovulação), declaração de abstinência pela duração do estudo, e suspensão não são métodos aceitáveis de contracepção.

Mulheres que não estão de acordo em usar controle de natalidade precisam ser de potencial de não ter filhos, definido como sendo: Pós-menopausal (por pelo menos 2 anos antes da Visita de Triagem), verificado por nível de hormônio estimulante de folículo de soro >40mIU/ml na Visita de Triagem, ou Permanentemente esterilizado (por exemplo, oclusão tubal bilateral, histerectomia, salpingectomia bilateral), ou congenitalmente estéril.

7. Métodos de contracepção para mascuinos indivíduos e suas parceiras femininas:

Indivíduo masculino com uma parceira com potencial de ter filhos precisa

ser disposto a usar um preservativo quando sexualmente ativo durante o estudo e por 3 meses após a administração final de IMP.

Adicionalmente, a parceira feminina com potencial de ter filhos de um male indivíduo precisa ser disposta a usar um método altamente eficaz de contracepção (conforme acima), durante o período de estudo e por 3 meses após a administração final de IMP.

6.2 Critérios de Exclusão

[0386] Indivíduos não são permitidos a se cadastrarem no estudo se qualquer um dos critérios a seguir for atendido:

1. O indivíduo recebeu anteriormente tratamento nesse estudo ou indivíduo foi anteriormente exposto a UCB7665.
2. O indivíduo participou de outro estudo de um IMP (ou um dispositivo médico) dentro dos últimos 30 dias de Triagem ou está participando atualmente de outro estudo de um IMP (ou um dispositivo médico).
3. O indivíduo tem uma hipersensibilidade conhecida a quaisquer componentes do IMP.
4. O indivíduo tem um histórico de hiperprolinemia, visto que L-prolina é um constituinte do IMP UCB7665.

Medicação/tratamento concomitante

Medicação concomitante permitida

[0387] Medicações concomitantes que são permitidas durante o curso do estudo em uma dose estável são

Observação de dose

Corticosteroides orais

(por exemplo, prednisona)

- Estável por 2 semanas antes da

Linha de Base

Metotrexato ≤ 30 mg/semana tratado pelos últimos 6 meses e

na dose estável por 2 meses antes

da Linha de Base

Mofetila de Micofenolato ≤ 3g/dia Tratado pelos últimos 6 meses e
na dose estável por 2 meses antes
da Linha de Base
Ciclosporina ≤ 5 mg/kg/dia para
Não modificada
≤ 4 mg/kg/dia para modificada
(microemulsão)
Tratado pelos últimos 6 meses e
na dose estável por 2 meses antes
da Linha de Base
Azatioprina ≤ 3 mg/kg/dia Tratado pelos últimos 6 meses e
na dose estável por 2 meses antes
da Linha de Base
Colinesterase
Inibidores
≤ 600 mg
Piridostigmina/dia
Dose estável não necessária – dose
mantida em dias de resultados de eficácia
Tacrolimusb ≤ 5 mg/dia Tratado pelos últimos 6 meses e
na dose estável por 2 meses antes
da Linha de Base

a. Doses mais altas do que as listadas são permissíveis se nível basal for ≤ 300 ng/L.
b Se a dose baseada em peso diário total for > 5 mg, então um nível basal de plasma deve ser verificado para
garantir que o indivíduo não esteja acima da faixa terapêutica recomendada.

Indivíduos não devem tomar piridostigmina (ou qualquer medicação inibidora de acetilcolinasterase) a partir da
meia-noite antes do teste quando for medicamente seguro fazer isso para padronizar o teste, mas se não for medicamente

apropriado, então o tratamento pode ser continuado, mas o teste deve ser realizado o melhor
possível no mesmo quadro de tempo após qualquer última medicação inibidora de acetilcolinasterase
dosagem para cada avaliação durante o estudo.

AVALIAÇÃO DE EFICÁCIA

1. Escala de Miastenia grave Quantitativa

[0388] Para avaliação da Escala de QMG, investigadores seguirão as instruções manuais de QMG da MGFA, conforme definido abaixo sob forma de Teste de Miastenia grave Quantitativa (consultar a Figura 5). A equipe clínica precisa concluir o treino obrigatório e ser certificada para avaliar pontuação de QMG dos indivíduos (detalhes são fornecidos no Study Procedures Manual).

[0389] Indivíduos não devem tomar piridostigmina (ou qualquer medicação inibidora de AChE) a partir da meia noite antes do teste quando for medicamente seguro fazer isso para padronizar o teste, mas se não for medicamente apropriado, então o tratamento pode ser continuado, mas o teste deve ser realizado o melhor possível no mesmo quadro de tempo após a última dosagem inibidora de AChE para cada avaliação durante o estudo.

[0390] A escala testa 13 itens, incluindo envolvimento ocular e facial, deglutição, fala, força de membros, e capacidade vital forçada (FVC). Para a avaliação de FVC, o mesmo espirômetro deve ser usado cada vez que um indivíduo é testado, e se possível, a mesma pessoa deve realizar a avaliação. Parâmetros e valores normais para FVC serão decididos entre os sítios de estudo, de modo que todos os sítios estejam usando as mesmas informações. A QMG é uma avaliação validada (Barnett et al, 2012), com uma pontuação mais alta que indica doença mais severa. A pontuação para cada item varia de sem fraqueza (0) a fraqueza severa (3), com uma faixa de pontuação geral de 0 a 39. Uma pontuação de 3 pontos na pontuação total é considerada clinicamente relevante. O teste dura aproximadamente 30 minutos para realizar.

INSTRUÇÕES GERAIS

1. Pacientes precisam ser desprovidos de piridostigmina (ou qualquer medicação inibidora de acetilcolinasterase) por doze (12) horas antes do teste, (se for medicamente seguro fazer isso).
2. Realizar os testes na ordem dada nesse Manual e mostrados na Fita de Vídeo.
3. Calibrar o equipamento respiratório no dia do teste, por instrução dos fabricantes, antes de o teste começar. Colocar o registro de calibração na pasta em um lugar acessível.
4. Para todas as medições, números de registro atuais assim como grau, isto é, se o mesmo levar 30 segundos antes de um paciente ter visão duplicada, registrar na caixa direita distante 30/1 por 30 segundos e um grau de 1.
5. Pacientes precisam permanecer sentados para o teste respiratório.
6. No fim da folha de pontuação, adicionar o grau para esse paciente e que se torna a Pontuação de WMG Total.

PONTUAÇÃO DE MG QUANTITATIVA

I. VISÃO DUPLA:

[0391] Preparação dos Pacientes: Paciente está sentado. Perguntar se o paciente está experimentando visão dupla ao olhar para frente. Em caso positivo, registrar 0/3 (tempo real/grau) na folha de pontuação. Em caso negativo, pedir ao paciente para olhar para a direita por um instante e então para a esquerda sem mover sua cabeça. Se o paciente tiver visão dupla em somente uma direção, registrar lado e registrar resultado como 0/3. Se não houver movimento ocular, registrar como 0/3. Se o paciente não tiver visão dupla, ou tiver visão dupla em ambas as direções, conduzir o teste aos mesmos conforme descrito abaixo olhando para a direita.

[0392] Explicação ao paciente: “É necessário que você se volte para frente. Quando for pedido, olhar para seu lado direito (esquerdo) sem virar sua cabeça. Se ou quando você tiver visão dupla, me avise por favor”.

[0393] Notas ao examinador: A cabeça do paciente geralmente começará a se voltar na direção do olhar. Tentar manter a cabeça em uma posição para frente.

Registrar o horário e o grau. Exemplo: visão dupla é evidente em 15 seg. Na seção de pontuação, registrar 15/1.

II. PTOSE (olhar para cima):

[0394] Preparação dos Pacientes: Paciente está sentado. Pedir ao paciente para olhar para frente. Se a tampa superior estiver tocando a pupila, registrar como 0/3. Pedir ao paciente para olhar para cima para o teto sem mover a cabeça.

[0395] Explicação ao paciente: “É necessário que você se volte para frente. Quando for pedido, olhar para o teto sem mover sua cabeça. Continue a olhar para cima até que o diga para relaxar”.

[0396] Notas ao examinador: Cabeça do paciente geralmente se moverá para cima. Tentar manter a cabeça em uma posição para frente. Registrar o horário e grau quando você olhar qualquer pálpebra (cílios) começarem a cair. Ex: Pálpebra direita começa a cair em 9 seg., registrar 9/2. Se nenhuma pálpebra tocar a pupila, registrar 60/0.

III. MÚSCULOS FACIAIS:

[0397] Preparação dos Pacientes: Paciente está sentado voltado para frente.

[0398] Explicação ao paciente: “Comprima seus olhos fechando-os. Não me permite abrir seus olhos”.

[0399] Notas ao examinador: Se o paciente não fechar totalmente qualquer olho, registrar o grau como 3. Nenhuma pontuação de tempo é necessária nesse teste. Registrar grau do olho mais fraco.

IV. DEGLUTIÇÃO:

[0400] Preparação do Paciente: Paciente está sentado. 118,3 ml (quatro onças) de água (sem gelo) é despejado em um copo. A água deve ser mais fria do que a fonte d’ água fria.

[0401] Explicação ao paciente: “É necessário que você beba essa água conforme normalmente beberia”.

[0402] Notas ao examinador: Ouvir tosse e/ou pigarro durante o teste e imediatamente após o teste. Não pedir aos pacientes para beber mais rápido do que os mesmos se sentem mais confortáveis para fazer isso.

V. FALA:

[0403] Preparação do Paciente: Paciente está sentado.

[0404] Explicação ao paciente: “Contar alto de 1 a 50 em um ritmo confortável”.

[0405] Notas ao examinador: Esse é um dos testes mais difíceis de pontuar devido a sotaques variados.

[0406] Registrar número quando for percebido um som anasalado ou fala arrastada.

VI. BRAÇO DIREITO E ESQUERDO ESTENDIDO:

[0407] Preparação do Paciente: O paciente precisa estar sentado em uma cadeira com ambos os pés no chão. Os mesmos precisam estar sentados sem se inclinarem contra a parte traseira de uma cadeira. Testar ambos os braços ao mesmo tempo.

[0408] Braços precisam estar ao lado em 90º, palmas para baixo. (Demonstrar essa posição). Se o paciente não puder levantar um braço além de 90º devido a um problema nos ombros, não testar esse braço. Os cotovelos são estendidos através da faixa mecânica total.

[0409] Explicação ao paciente: “É necessário que você segure ambos os braços ao lado desse jeito. Manter os braços para fora o máximo de tempo possível. Se um braço se cansar mais do que o outro, você pode abaixar esse braço e manter o outro braço levantado.”

[0410] Notas ao examinador: Não é incomum que os braços comecem a cair. Se os braços caírem mais do que

[0411] 10º da posição inicial, lembrar o paciente para levantar os braços. Se o paciente puder levantar os braços, mas não mantê-los nessa posição para mais do que dois segundos, parar o teste. Se um braço for abaixado, ter cuidado para que o paciente não comece a se inclinar para lado que o braço foi abaixado para proporcionar a aparência de que ele/ela está mantendo um ângulo de 90º. Registrar tempo/grau (ex: 45 seg. para o braço direito é 45/2; enquanto 100 seg. para o braço esquerdo é 100/1).

VII: CAPACIDADE VITAL FORÇADA: Preparação dos Pacientes: Pacientes devem permanecer sentados para esse teste.

[0412] Explicação ao paciente: “Estou testando a capacidade pulmonar total. Pedirei que você mantenha essa boquilha distante de sua face. Então eu colocarei os clipes nasais em seu nariz. Pedirei que respire fundo, e então coloque a boquilha em sua boca. Você soprará o forte e mais rápido que puder. Mantenha-se soprando até que o diga para parar.

[0413] Notas ao examinador: Estamos somente testando FVC. Um mínimo de três testes e um máximo de cinco testes serão realizados. A meta é obter os dois melhores testes dentro de 5% um do outro. Proporcionar muito encorajamento. Registrar o melhor FVC (litros e porcentagem) e grau na folha, (ex: 2,55 a 60% /2).

[0414] Os valores de FVC "normais" e, portanto, a porcentagem de cálculos previstos pode variar com o espirômetro que é usado. Alguns espirômetros são acompanhados por valores normais especificados. Isso se deve ao fato de que o mesmo espirômetro deve ser usado cada vez que é testado um indivíduo. Para estudos de múltiplos sítios, parâmetros e valores normais devem ser decididos de modo que todos os sítios estejam usando as mesmas informações.

VIII: AGARRAMENTO MANUAL DIREITO E ESQUERDO:

[0415] Preparação dos Pacientes: Paciente está sentado em uma cadeira. O cotovelo deve estar em 90o. Suporte deve estar sob o aspecto medial do antebraço e sob o dianômetro.

[0416] Explicação ao paciente: “Está sendo testada a força de agarramento. É necessário que você comprima o mais forte que puder. Nada se moverá, mas é medido o quão forte você está comprimindo.”

[0417] Notas ao examinador: Proporcionar encorajamento vocal. Registrar os dois testes (kgs) na coluna e pontuação (ex: se testar uma mulher e resultados forem 10 e 8 kgs, registrar como 10/1.)

IX. CABEÇA LEVANTADA:

[0418] Preparação dos Pacientes: O paciente se deitará sem um travesseiro sob a cabeça. Um travesseiro pode ser colocado sob os joelhos ou os joelhos dobrados de modo que os pés estejam planos na cama.

[0419] Explicação ao paciente: “É necessário que você levante sua cabeça fora

da mesma. Mantenha-a levantada o máximo de tempo possível".

[0420] Notas ao examinador: Colocar sua mão sob sua cabeça (sem tocar) para fornecer um estofamento se a cabeça cair. A cabeça deve ir para cima e para frente, não somente para cima ao teto. Se a cabeça cair dentro de 10o de neutro, parar o teste.

X. PERNA DIREITA E ESQUERDA ESTENDIDAS:

[0421] Preparação dos Pacientes: Paciente está em supino com um travesseiro sob a cabeça. Ambas as pernas precisam estar retas e sem tênis.

[0422] Explicação ao paciente: "É necessário que você mantenha sua perna direita levantada. Manter a pena levantada nessa posição o máximo de tempo possível."

[0423] Notas ao examinador: Perna precisa ser mantida a 45 a 50% da flexão de quadril. Se a perna começar a cair, pedir ao paciente para levantar a perna. Se o paciente levantar a perna, mas não puder mantê-la nessa posição por 2 segundos, parar o teste. Observar mãos sob os quadris e/ou rotação da perna.

2. Escala de Compósito de MG

[0424] Para avaliação da escala de Compósito de MG, o investigador examinará o indivíduo para pontuar todos os itens, exceto para fala, mastigação e deglutição para os quais o indivíduo se autoavaliará. A escala compósita de MG é uma avaliação validada (Burns et al, 2010 MG Composite and MG-QOL15 Study Group. The MG Composite: A valid and reliable outcome measure for myasthenia grave. Neurology. 4 de maio de 2010;74(18):1434-40.), com uma pontuação mais alta que indica doença mais severa (consultar a Figura 6) e uma mudança de 3 pontos sendo de relevância clínica. A escala testa 10 itens, com itens individuais sendo pesados de modo diferente. A pontuação geral varia de 0 a 50. A equipe clínica precisa concluir o treino obrigatório e ser certificada para avaliar pontuação de Compósito de MG dos indivíduos (detalhes são fornecidos no Study Procedures Manual).

3. Resultados relatados por paciente

[0425] Indivíduos completarão 4 resultados relatados por pacientes (PROs) um dos quais é MGADL, e participarão de 1 entrevista de saída de veículo como por pontos de tempo mencionados na programação de avaliações de estudo.

[0426] A equipe de estudos diferente do médico de tratamento deve administrar os PROs. Os PROs devem ser completados pelos próprios indivíduos em um lugar calmo.

[0427] Os PROs e a entrevista de saída de indivíduo devem ser completados na ordem a seguir: Fraqueza muscular de MG e capacidade de fadiga, Fadiga, MGADL e MGII, seguida pela entrevista de saída de indivíduo (que será realizada somente no FV). Os PROs devem ser somente verificados para completude. Nos dias de dosagem, os PROs serão completados antes da dosagem.

Atividades de MG de Vivência Diária (MGADL)

[0428] O MGADL é um instrumento de PRO de 8 itens desenvolvido com base no QMG (Wolfe et al, 1999), consultar a Figura 7. A MGADL alveja sintomas e deficiência através de sintomas oculares, bulbares, respiratórios e axiais. Em um estudo recente, confiabilidade, validade, e responsividade do MGADL foram adicionalmente avaliados. O questionário mostrou forte validade de construto quando avaliado com o Compósito de MG assim como com o MG-QOL15, alta confiabilidade de reensaio de teste em um intervalo de 1 semana, e foi demonstrado que uma melhoria de 2 pontos indica melhoria clínica (Muppidi, 2012; Muppidi et al, 2011). A pontuação de MGADL total varia de 0 a 24, com uma pontuação mais alta que indica mais deficiência. Indivíduos completarão o MGADL por conta própria conforme descrito na administração padronizada de PROs.

Exemplo 3

[0429] Resultados de estudo MG002

Projeto de Estudo

[0430] MG0002 (NCT03052751) (protocolo fornecido no Exemplo 2) foi um teste de prova de conceito controlado com placebo randomizado de 2 fases que cadastrou 43 pacientes com MG da América do Norte e Europa com fraqueza muscular generalizada e uma pontuação total de Miastenia grave quantitativa (QMG) de pelo menos 11. MG0002 comparou três infusões subcutâneas uma vez/semana de placebo (N=22) e 7 mg/kg rozanolixizumab (N=21) nos dias 1, 8, 15 e foram comparados durante um período de quatro semanas (período de dosagem 1).

[0431] Após o período de dosagem 1, os participantes foram novamente randomizados para receber tanto 7 mg/kg como 4 mg/kg de rozanolixizumab nos dias 29, 36, e 43 (período de dosagem 2) com observação continuada até o dia 99 (Consultar a Figura 2). Terapias convencionais foram permitidas e incluíram corticosteroides e/ou agentes imunomodulatórios e/ou inibidores de Colinesterase. Análises pré-especificadas de segurança e eficácia através de ambos os períodos de dosagem observavam os dados após seis infusões subcutâneas de rozanolixizumab. Resultados de Estudo:

[0432] Ao fim do Período de dosagem 1: A taxa de respondedor de Miastenia grave Quantitativa (QMG) foi de 38,1% em comparação a 22,7% para placebo (p=0,223), a taxa de respondedor Compósito de Miastenia grave (MGC) foi 47,6% em comparação a 27,3% para placebo (p=0,144). Para as Atividades de Miastenia grave de Vivência Diária (MG-ADL), a taxa de respondedor foi 47,6% em comparação a 13,6% para placebo (p=0,017). Uma redução de 3 ou mais pontos a partir da linha de base foi definida como resposta para QMG, MGC e MG-ADL.

[0433] A Mudança a partir da linha de base na pontuação de Atividades de Miastenia grave de Vivência Diária (MG-ADL), um ponto final de registro estabelecido, foi marcado melhorado em comparação a placebo (p = 0,036).

[0434] Durante o período de dosagem 2, reduções clinicamente significativas das pontuações foram observadas com durabilidade dos efeitos após a última dose, até o dia 99. Em geral, as maiores reduções a partir da linha de base em QMG, Compósito de MG e pontuações de MG-ADL foram observadas no grupo rozanolixizumab a 7 mg/kg / rozanolixizumab a 7 mg/kg (consultar as Figuras 3 e 4)

[0435] Análises pré-especificadas através dos dois períodos de dosagem (isto é, após seis infusões subcutâneas de rozanolixizumab) mostraram benefícios de paciente clinicamente significativos de modo consistente através de vários pontos finais específicos de doença, incluindo QMG, MGC e MG-ADL. Participantes de tratamento ativo mostrou uma redução marcada de níveis totais de IgG e níveis de autoanticorpo de IgG. Concentrações de IgG de soro reduziram em 55% após duas semanas de tratamento de rozanolixizumab. IgG total e anticorpos de antiacetilcolina

receptor (antiAChR) diminuíram em quase 70% a partir da linha de base durante o período de dosagem 2 em participantes que recebem rozanolixizumab a 7 mg/kg em ambos os períodos de dosagem. Pacientes com anticorpos antiMuSK foram elegíveis para MG0002, no entanto, anticorpos antiMuSK não foram avaliados devido a baixos números de paciente (n=1 grupo rozanolixizumab a 7 mg/kg / rozanolixizumab a 7 mg/kg).

Exemplo 4: Um Estudo Controlado com Placebo, de Ocultação Dupla, Randomizado de Fase 3 que Avalia Eficácia e Segurança de Pacientes adultos Com Miastenia grave Generalizada (MG0003 ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03971422)

[0436] Esse é um estudo de Fase 3 de rozanolixizumab em pacientes positivos de autoanticorpo antiAChR ou antiMuSK com MG generalizada que experimentam sintomas moderados a severos e estão sendo considerados para tratamento com IVIg ou PLEX. O objetivo primário do estudo é demonstrar a eficácia clínica de rozanolixizumab em pacientes com MG generalizada. O estudo é composto de um período de Triagem de até 4 semanas, seguido por um Período de Tratamento com ocultação dupla de 6 semanas e um Período de Observação de 8 semanas.

[0437] Resultados de MG0002 mostraram que administração subcutânea (sc) de rozanolixizumab resultou em uma rápida redução de concentrações de IgG de soro, que também mostrou as maiores reduções da linha de base em QMG, Compósito de MG e MG-ADL após 6 doses (Dia 50). Portanto, uma duração de tratamento de 6 semanas foi selecionada para MG0003. Um Período de Observação de 8 semanas foi definido de modo a seguir a recuperação de anticorpos de IgG e AChR e MuSK, assim como monitorar a sustentabilidade dos efeitos clínicos após a descontinuação.

Número de Participantes

[0438] O tamanho de amostra total do estudo poderia variar entre 150 e 240 participantes de estudo.

Grupos de Tratamento e Duração

[0439] A duração máxima do estudo por participantes de estudo será de até 18 semanas, consistindo em um Período de Triagem (1 a 28 dias para totalizar o tempo de volta ao laboratório central), um Período de Tratamento (6 semanas), e um Período

de Observação (8 semanas).

[0440] Doses unitárias fixas através de camadas de peso corporal e braços de estudo serão empregados.

[0441] O braço de placebo será solução aquosa de cloreto de sódio a 0,9% (salino fisiológico, livre de conservante) para administração subcutânea (sc).

[0442] Dois braços de tratamento de sc assumirão doses unitárias fixas estratificadas em camadas de peso conforme descrito abaixo:

[0443] Braço de tratamento 1 (rozanolixizumab) – 6 doses sc a 1 intervalo semanal (equivalente a aproximadamente 7 mg/kg)

- Peso corporal < 50 kg: dose a ser administrada 280 mg
- Peso corporal ≥ 50 kg e < 70 kg: dose a ser administrada 420 mg
- Peso corporal ≥ 70 kg e < 100 kg: dose a ser administrada 560 mg
- Peso corporal ≥ 100 kg; dose a ser administrada 840 mg

[0444] Braço de tratamento 2 (rozanolixizumab) – 6 doses sc a 1 intervalo semanal (equivalente a aproximadamente 10 mg/kg)

- Peso corporal < 50 kg: dose a ser administrada 420 mg
- Peso corporal ≥ 50 kg e < 70 kg: dose a ser administrada 560 mg
- Peso corporal ≥ 70 kg e < 100 kg: dose a ser administrada 840mg
- Peso corporal ≥ 100 kg: dose a ser administrada 1.120 mg

[0445] Um modelo de PKPD de população que caracteriza a relação de dose-exposição-IgG foi usado para guiar, através de simulação, a escolha de doses unitárias fixas em cada suporte de peso que alcançaram reduções de IgG equivalentes (médias e 90% de intervalo de previsão) aos regimes de dosagem baseados em peso (mg/kg) estudados anteriormente. Essas simulações baseadas em modelos demonstram que as doses semanais propostas de rozanolixizumab por 6 semanas consecutivas são esperadas para produzir reduções de IgG máximas médias de ≥75%.

Medidas de Resultado

[0446] Medidas de resultado primário :

1. Mudança a partir da linha de base à Visita 10 na pontuação de Atividades

de Miastenia grave de Vivência Diária (MG-ADL) [Quadro de Tempo: Linha de Base e Visita 10 (Dia 43)]

A pontuação de MG-ADL total é obtida somando-se as respostas a cada item individual (8 itens; Graus: 0, 1, 2, 3). A pontuação varia de 0 a 24, com uma pontuação mais alta que indica mais deficiência.

[0447] Medições de Resultado Secundário :

1. Porcentagem de participantes que atingem resposta de Atividades de Miastenia grave de Vivência Diária (MG-ADL) na Visita 10 [Quadro de Tempo: Visita 10 (Dia 43)]
2. Mudança a partir da linha de base à Visita 10 na pontuação de Compósito de Miastenia grave [Quadro de Tempo: Linha de Base e Visita 10 (Dia 43)]

A pontuação de compósito de Miastenia grave(MG) total é obtida somando-se as respostas a cada item individual (10 itens; Grau:0 a 9 dependendo do item). A pontuação varia de 0 a 50, com pontuações inferiores indicando atividade de doença inferior.

3. Mudança a partir da linha de base à Visita 10 de pontuação de Miastenia grave Quantitativa (QMG) [Quadro de Tempo: Linha de Base e Visita 10 (Dia 43)]

A pontuação de QMG total é obtida somando-se as respostas a cada item individual (13 itens; Respostas: Nenhuma=0, Branda=1, Moderada=2, Severa=3). A pontuação varia de 0 a 39, com pontuações inferiores indicando atividade de doença inferior.

4. Mudança a partir da linha de base à Visita 10 da pontuação de "Capacidade de Fadiga" de Resultado Relatado por Paciente (PRO) de Sintomas de Miastenia grave (MG) [Quadro de Tempo: Linha de Base e Visita 10 (Dia 43)]

O instrumento de PRO de sintomas de MG consiste em 42 itens através de 5 escalas: sintomas oculares (itens 1 a 5); sintomas bulbares (itens 6 a 15); sintomas respiratórios (itens 16 a 18); fadiga física (itens 19 a 33)

e capacidade de fadiga de fraqueza muscular (itens 34-42).

Será pedido ao participante de estudo para escolher a opção de resposta que melhor descreve a severidade de sintomas oculares, bulbares, e respiratórios nos últimos 7 dias com uso de uma escala Likert de 4 pontos (“nenhuma” a “severa”) e quão frequentemente os mesmos experimentam fadiga física e capacidade de fadiga de fraqueza muscular nos últimos 7 dias com uso de uma escala Likert de 5 pontos (“em tempo algum” a “a todo o tempo”), respectivamente.

5. Mudança a partir da linha de base à Visita 10 na pontuação de "Fadiga Física, Membros e Fraqueza Axial de Resultado Relatado por Paciente (PRO) de Sintomas de Miastenia grave (MG) [Quadro de Tempo: Linha de Base e Visita 10 (Dia 43)]

O instrumento de PRO de sintomas de MG consiste em 42 itens através de 5 escalas: sintomas oculares (itens 1 a 5); sintomas bulbares (itens 6 a 15); sintomas respiratórios (itens 16 a 18); fadiga física (itens 19 a 33) e capacidade de fadiga de fraqueza muscular (itens 34-42).

Será pedido ao participante de estudo para escolher a opção de resposta que melhor descreve a severidade de sintomas oculares, bulbares, e respiratórios nos últimos 7 dias com uso de uma escala Likert de 4 pontos (“nenhuma” a “severa”) e quão frequentemente os mesmos experimentam fadiga física e capacidade de fadiga de fraqueza muscular nos últimos 7 dias com uso de uma escala Likert de 5 pontos (“em tempo algum” a “a todo o tempo”), respectivamente.

6. Mudança a partir da linha de base à Visita 10 da pontuação de "Bulbar" de Resultado Relatado por Paciente (PRO) de Sintomas de Miastenia grave (MG) [Quadro de Tempo: Linha de Base e Visita 10 (Dia 43)]

O instrumento de PRO de sintomas de MG consiste em 42 itens através de 5 escalas: sintomas oculares (itens 1 a 5); sintomas bulbares (itens 6 a 15); sintomas respiratórios (itens 16 a 18); fadiga física (itens 19 a 33) e capacidade de fadiga de fraqueza muscular (itens 34-42).

Será pedido ao participante de estudo para escolher a opção de resposta que melhor descreve a severidade de sintomas oculares, bulbares, e respiratórios nos últimos 7 dias com uso de uma escala Likert de 4 pontos (“nenhuma” a “severa”) e quão frequentemente os mesmos experimentam fadiga física e capacidade de fadiga de fraqueza muscular nos últimos 7 dias com uso de uma escala Likert de 5 pontos (“em tempo algum” a “a todo o tempo”), respectivamente.

7. Ocorrência de eventos adversos emergentes de tratamento (TEAEs) [Quadro de Tempo: a partir da Linha de Base até o Fim da Visita de Estudo (até a semana 14)]

Um Evento adverso (AE) é qualquer ocorrência médica desfavorável em um paciente ou indivíduo de investigação clínica ao qual foi administrado um produto farmacêutico, que não tem necessariamente uma relação causal com esse tratamento. Um AE poderia ser, portanto, qualquer sinal desfavorável ou não pretendido, sintoma, ou doença temporariamente associada ao uso de um produto medicinal (investigacional), a possibilidade de ser relacionada ou não ao produto medicinal (investigacional).

Um evento adverso emergente de tratamento (TEAE) é definido como qualquer evento que não estava presente antes da primeira administração de IMP ou qualquer evento não resolvido já presente antes da primeira administração de IMP que piora a intensidade após exposição ao tratamento.

8. Eventos adversos emergentes de tratamento (TEAEs) causando a suspensão de produto medicinal investigacional (IMP) [Quadro de Tempo: a partir da Linha de Base até o Fim da Visita de Estudo (até a semana 14)]

Uma das medidas de resultado secundário é avaliar a segurança e tolerabilidade do IMP nos pacientes com MG. Isso pode ser medido pelos eventos adversos emergentes de tratamento (TEAEs) causando

suspensão de IMP.

Um TEAE é definido como qualquer evento que não estava presente antes da primeira administração de IMP ou qualquer evento não resolvido já presente antes da primeira administração de IMP que piora a intensidade após exposição a tratamento.

Critérios de Elegibilidade

Critérios

[0448] Critérios de Inclusão:

[0449] O participante de estudo precisa ser ≥18 anos de idade, na época de assinatura do consentimento informado

[0450] O participante de estudo tem diagnóstico documentado de miastenia grave generalizada (gMG) na Visita 1, com base no histórico do participante de estudo e apoiado por avaliações anteriores

[0451] O participante de Estudo tem um registro positivo confirmado de autoanticorpos contra acetilcolina receptor (AChR) ou quinase específica de músculo (MuSK) antes da Visita 1

[0452] O participante de Estudo tem Classe II a IVa de Fundação de Miastenia grave da América (MGFA) na Visita 1

[0453] O participante de Estudo com uma pontuação de atividades de miastenia grave de vivência diária (MG-ADL) de pelo menos 3 AND uma pontuação de miastenia grave quantitativa (QMG) de pelo menos 11 na Visita 1 e na Linha de Base

[0454] Critérios de Exclusão:

[0455] O participante de Estudo tem uma infecção ativa clinicamente relevante (por exemplo, sepse, pneumonia ou abcesso) na opinião do Investigador, ou teve uma séria infecção (resultando em hospitalização ou necessitando de tratamento com antibiótico parenteral) dentro de 6 semanas antes da primeira dose de produto medicinal investigacional (IMP)

[0456] O participante de Estudo experimentou reação de hipersensibilidade após exposição a outros fármacos de receptor de Fc antineonatal (FcRn)

[0457] O participante de Estudo com severa fraqueza (definida como Grau 3 na

escala de MG-ADL) afetando os músculos orofaringeal ou respiratórios, ou que tem crise miastênica ou crise iminente na Visita 1

Tratamentos Concomitantes Permitidos

Permitidas Medicações	Observação de dose
Corticosteroides orais (por exemplo, prednisona)	- Estável por 2 semanas antes da Linha de Base
Metotrexato ≤ 30 mg/semana	tratado pelos últimos 6 meses e na dose estável por 2 meses antes da Linha de Base
Mofetila de Micofenolato ≤ 3g/dia	Tratado pelos últimos 6 meses e na dose estável por 2 meses antes da Linha de Base
Ciclosporina ≤ 5 mg/kg/dia para Não modificada ≤ 4 mg/kg/dia para modificada (microemulsão)	Tratado pelos últimos 6 meses e na dose estável por 2 meses antes da Linha de Base
Azatioprina ≤ 3 mg/kg/dia	Tratado pelos últimos 6 meses e na dose estável por 2 meses antes da Linha de Base
Colinesterase Inibidores ≤600 mg Piridostigmina/dia	

Dose estável não necessária – dose
mantida em dias de resultados de eficácia
Tacrolimusb ≤ 5 mg/dia Tratado pelos últimos 6 meses e
na dose estável por 2 meses antes
da Linha de Base

a Doses mais altas do que as listadas são permissíveis se nível basal for ≤ 300 ng/L.

b Se a dose baseada em peso diário total for >5 mg, então um nível basal de plasma deve ser verificado para garantir que participante de estudo não esteja acima da faixa terapêutica recomendada.

Tratamentos concomitantes proibidos (medicações e terapias)

[0458] As seguintes medicações concomitantes são proibidas durante o estudo:

[0459] Todos os agentes biológicos incluindo rituximab

[0460] Ciclofosfamida

[0461] Pimecrolimus

[0462] IPP-201101 (Lupuzor™)

[0463] Imunoadsorção

REFERÊNCIAS

[0464] Barnett C, Katzberg H, Nabavi M, Bril V. The quantitative myasthenia gravis score:

[0465] comparison with clinical, electrophysiological, and laboratory markers. J Clin Neuromuscul Dis. 2012;13(4):201-5.

[0466] Burns TM, Conaway M, Sanders DB; MG Composite and MG-QOL15 Study Group. The MG Composite: A valid and reliable outcome measure for myasthenia gravis. Neurology. 4 de maio de 2010;74(18):1434 a 40.

[0467] CPMP/ICH/135/95 Note for guidance on Good Clinical Practice (EMEA) Jul 2002.

[0468] Gilhus NE, Verschuuren JJ. Myasthenia gravis: subgroup classification and therapeutic strategies.Lancet Neurol. 2015;14(10):1023 a 36.

[0469] Jaretzki A, Barohn RJ, Ernstoff MD, Kaminski HJ, Keesey MD, Penn AS, et al. Myasthenia gravis: Recommendations for clinical research standards. Neurol.

2000;55:16 a 23.

[0470] Muppidi S. The myasthenia gravis-specific activities of daily living profile. Ann N Y Acad Sci, 2012. 1274: p. 114 a 9

[0471] Muppidi S, Wolfe GI, Conaway M, Burns TM; MG COMPOSITE AND MG-QOL15 STUDY GROUP. MG-ADL: still a relevant outcome measure. Muscle Nerve. Nov de 2011;44(5):727 a 31.

[0472] Wolfe GI, Herbelin L, Nations SP, Foster B, Bryan WW, Barohn RJ. Myasthenia gravis activities of daily living profile. Neurology. 22 de abril de 1999;52(7):1487 a 9.

[0473] World Health Organization. Guidelines para treatment of tuberculosis (Quarta edição). Geneva:World Health Organization; 2010.

[0474] Todas as referências citadas no presente documento são incorporadas por meio deste a título de referência em sua totalidade. Os exemplos a seguir se destinam a ilustrar a invenção, não se limitam de modo algum. Modificações dentro do espírito e escopo da invenção revelado no presente documento são incluídas.

REIVINDICAÇÕES

1. Método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, sendo que o método é caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao humano pelo menos três doses de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que cada dose é independentemente selecionada dentre 4 mg/kg, 7 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg e 20 mg/kg.

2. Anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo para uso no tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao humano pelo menos três doses do anticorpo ou fragmento de ligação a antígeno, em que cada dose é independentemente selecionada dentre 4 mg/kg, 7 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg e 20 mg/kg.

3. Uso de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo para a fabricação de um medicamento para o tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) caracterizado pelo fato de que compreende administrar pelo menos três doses do anticorpo ou fragmento de ligação do mesmo, em que cada dose é independentemente selecionada dentre 4 mg/kg, 7 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg e 20 mg/kg.

4. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizados pelo fato de que o anticorpo ou fragmento de ligação do mesmo compreende:

a. uma cadeia pesada ou fragmento de cadeia pesada que tem uma região variável, em que a dita região variável compreende três CDRs que têm as sequências dadas em SEQ ID NO: 1 para CDR H1, SEQ ID NO: 2 para CDR H2 e SEQ ID NO: 3 para CDR H3, e

b. uma cadeia leve ou fragmento de cadeia leve que tem uma região variável, em que a dita região variável compreende três CDRs que têm as sequências dadas na SEQ ID NO: 4 para CDR L1, SEQ ID NO: 5 para CDR L2 e SEQ ID NO: 6 para CDR L3,

5. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizados pelo fato de que o anticorpo ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo é humanizado.

6. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizados pelo fato de que o anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação do mesmo compreende uma cadeia pesada que compreende a sequência dada na SEQ ID NO:29 ou uma sequência específica a FcRn pelo menos 80% idêntica à mesma.

7. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizados pelo fato de que o anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação do mesmo compreende uma cadeia leve que compreende a sequência dada na SEQ ID NO:15 ou uma sequência específica a FcRn pelo menos 80% idêntica à mesma.

8. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com a reivindicação 6 ou 7, caracterizados pelo fato de que o anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação do mesmo compreende uma sequência de domínio variável de cadeia pesada que tem a sequência dada na SEQ ID NO:29 e uma sequência de domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência dada na SEQ ID NO:15.

9. Método, anticorpo antiFcRn ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizados pelo fato de que o anticorpo é um anticorpo de comprimento total.

10. Método, anticorpo antiFcRn ou uso, de acordo com a reivindicação 9, caracterizados pelo fato de que o anticorpo de comprimento total é selecionado a partir do grupo que consiste em um IgG1, IgG4 e IgG4P.

11. Método, anticorpo antiFcRn ou uso, de acordo com a reivindicação 9 ou 10, caracterizados pelo fato de que o anticorpo antiFcRn tem uma cadeia pesada que compreende a sequência dada na SEQ ID NO:72 ou SEQ ID NO:87 ou SEQ ID NO:43 e uma cadeia leve que compreende a sequência dada na SEQ ID NO:22.

12. Método, anticorpo antiFcRn ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizados pelo fato de que o anticorpo antiFcRn é UCB7665 (rozanolixizumab).

13. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, caracterizados pelo fato de que têm uma afinidade de ligação para FcRn humano de 100 pM ou menos.

14. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com a reivindicação 13, caracterizados pelo fato de que a afinidade de ligação para FcRn humano é 100 pM ou menos quando medida em pH 6 e em pH 7,4.

15. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, caracterizados pelo fato de que o anticorpo ou fragmento de ligação a antígeno é fornecido como uma composição farmacêutica que compreende um ou mais de um excipiente, diluente ou carreador farmaceuticamente aceitáveis.

16. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com a reivindicação 15, caracterizados pelo fato de que a composição farmacêutica compreende adicionalmente um ou mais outros ingredientes ativos.

17. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizados pelo fato de que cada dose é 4 mg/kg ou 7 mg/kg ou 10 mg/kg ou 15 mg/kg ou 20 mg/kg.

18. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizados pelo fato de que cada dose é 7 mg/kg ou 10 mg/kg.

19. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 18, caracterizados pelo fato de que cada dose é administrada semanalmente.

20. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 19, caracterizados pelo fato de que pelo menos 4, 5 ou 6 doses são administradas semanalmente, opcionalmente com um intervalo de dosagem entre a terceira e a quarta dose.

21. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 20, caracterizados pelo fato de que pelo menos 6 doses de anticorpo ou fragmento de ligação a antígeno são administradas semanalmente e cada dose está na faixa de 4 mg/kg a 30 mg/kg, por exemplo, 7 mg/kg ou 10 mg/kg.

22. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 21, caracterizados pelo fato de que o anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo é administrado de modo subcutâneo ou intravenoso.

23. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 22, caracterizados pelo fato de que o anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo bloqueia a ligação de IgG humano a FcRn humano.

24. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 23, caracterizados pelo fato de que o anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo não se liga a microglobulina β2.

25. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 24, caracterizados pelo fato de que quatro, cinco ou seis doses semanais são administradas, seguidas por uma ou mais doses adicionais que são menores e/ou menos frequentes do que as quatro, cinco ou seis doses iniciais.

26. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 25, caracterizados pelo fato de que o anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a

antígeno do mesmo se liga a um epítopo de FcRn humano que compreende pelo menos um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em resíduos V105, P106, T107, A108 e K109 da SEQ ID NO:94 e pelo menos um resíduo, por exemplo, pelo menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 resíduos selecionados a partir do grupo que consiste em P100, E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 e E133 da SEQ ID NO:94.

27. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 26, caracterizados pelo fato de que o humano é que sofre de MG generalizada que é classificada como moderada a severa.

28. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 27, caracterizados pelo fato de que o humano é positivo de autoanticorpo antiAChR e/ou antiMuSK e opcionalmente está sendo considerado para tratamento com IVIg ou troca de plasma.

29. Método, anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 28, caracterizados pelo fato de que cada dose é fornecida como uma dose de unidade fixa selecionada dentre 280 mg, 420 mg, 560 mg, 840 mg e 1.120 mg.

30. Método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, sendo que o método é caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao humano pelo menos 3 doses, preferencialmente pelo menos 6 doses, de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que cada dose é selecionada dentre 280 mg, 315 mg, 350 mg, 385 mg, 420 mg, 455 mg, 490 mg, 525 mg, 560 mg, 595 mg, 630 mg, 665 mg, 700 mg, 735 mg, 770 mg, 805 mg, 840 mg, 875 mg, 910 mg, 945 mg, 980 mg, 1.015 mg, 1.050 mg, 1.085 mg e 1.120 mg e em que o anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada que compreende a sequência dada na SEQ ID NO:29 e uma cadeia leve que compreende a sequência dada na SEQ ID NO:15.

31. Método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, sendo que o método é caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao humano pelo menos 6 doses de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que, para um peso corporal de menos do que 50 kg, a dose é 280 mg, para um peso corporal igual ou maior do que 50 kg, mas menor do que 70 kg, a dose é 420 mg, para um peso corporal igual ou maior do que 70 kg, mas menor do que 100 kg, a dose é 560 mg e para um peso corporal igual ou maior do que 100 kg, a dose é 840 mg.

32. Método de tratamento ou prevenção de miastenia grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, sendo que o método é caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao humano pelo menos 6 doses de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo em que, para um peso corporal de menos do que 50 kg, a dose é 420mg, para um peso corporal igual ou maior do que 50 kg, mas menor do que 70 kg, a dose é 560mg, para um peso corporal igual ou maior do que 70 kg, mas menor do que 100 kg, a dose é 840mg e para um peso corporal igual ou maior do que 100 kg, a dose é 1.120mg.

33. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 30 a 32, caracterizado pelo fato de que cada dose é administrada semanalmente.

FIGURA 1

Sequências de Ab CA170_1519

CDRH1
GFTFSNYGMV SEQ ID NO: 1

CDRH2
YIDSDGDNTYYRDSVKG SEQ ID NO: 2

CDRH3
GIVRPFLY SEQ ID NO: 3

CDRL1
KSSQSLVGASGKTYLY SEQ ID NO: 4

CDRL2
LVSTLDS SEQ ID NO: 5

CDRL3
LQGTHFPHT SEQ ID NO: 6

Região VL 1519 de Ab de rato SEQ ID NO: 7
DVVMTQTPLS LSVALGQPAS ISCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQRSGQSPK
RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLQGTHFP
HTFGAGTKLE LK

Região VL 1519 de Ab de rato SEQ ID NO: 8

gatgttgtga tgacccagac tccactgtct ttgtcggttg cccttggaca
accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagtg
gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag
cgactaatct atctggtgtc cacactggac tctggaattc ctgataggtt
cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg
aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtac acattttcct
cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ttgaaa

Região VL 1519 de Ab de rato com sequência de sinais sublinhada e em itálico SEQ ID NO: 9

MMSPAQFLFL LMLWIQGTSG DVVMTQTPLS LSVALGQPAS ISCKSSQSLV
GASGKTYLYW LFQRSGQSPK RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI
RRVEADDLGV YYCLQGTHFP HTFGAGTKLE LK

FIGURA 1A

Região VL 1519 de Ab de rato com sequência de sinais sublinhada e em itálico SEQ ID NO: 10

atgatgagtc ctgcccagtt cctgtttctg ctgatgctct ggattcaggg
aaccagtggt gatgttgtga tgacccagac tccactgtct ttgtcggttg
cccttggaca accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta
ggtgctagtg gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca
gtctccaaag cgactaatct atctggtgtc cacactggac tctggaattc
ctgataggtt cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc
cgcagagtgg aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtac
acattttcct cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ttgaaa

Região VH 1519 de Ab de rato SEQ ID NO: 11

EVPLVESGGG SVQPGRSMKL SCVVSGFTFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY
IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTTGI
VRPFLYWGQG TTVTVS

Região VH 1519 de Ab de rato SEQ ID NO: 12

gaggtgccgc tggtggagtc tgggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc
catgaaactc tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aattatggca
tggtctgggt ccgccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat
attgattctg atggtgataa tacttactac cgagattccg tgaagggccg
attcactatc tccagaaata atgcaaaaag cacctatat ttgcaaatgg
acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt
gtccggccct ttctctattg gggccaagga accacggtca ccgtctcg

Região VH 1519 de Ab de rato com sequência de sinais sublinhada e em itálico SEQ ID NO: 13

*MDISLSLAFL VLFIKGVRC*E VPLVESGGGS VQPGRSMKLS CVVSGFTFSN
YGMVWVRQAP KKGLEWVAYI DSDGDNTYYR DSVKGRFTIS RNNAKSTLYL
QMDSLRSEDT ATYYCTTGIV RPFLYWGQGT TVTVS

Região VL 1519 de Ab de rato com sequência de sinais sublinhada e em itálico SEQ ID NO: 14

atggacatca gtctcagctt ggctttcctt gtccttttca taaaaggtgt
*ccggtgt*gag gtgccgctgg tggagtctgg gggcggctca gtgcagcctg
ggaggtccat gaaactctcc tgtgtagtct caggattcac tttcagtaat
tatggcatgg tctgggtccg ccaggctcca aagaagggtc tggagtgggt
cgcatatatt gattctgatg gtgataatac ttactaccga gattccgtga
agggccgatt cactatctcc agaaataatg caaaaagcac cctatatttg
caaatggaca gtctgaggtc tgaggacacg gccacttatt actgtacaac
agggattgtc cggccctttc tctattgggg ccaaggaacc acggtcaccg
tctcg

FIGURA 1B

Região V 1519 gL20 SEQ ID NO: 15

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQKPGKAPK
RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP
HTFGQGTKLE IK

Região V 1519 gL20 (expressão de E. coli) SEQ ID NO: 16

gatatccaga tgacccagag tccaagcagt ctctccgcca gcgtaggcga
tcgtgtgact attacctgta aaagctccca gtccctggtg ggtgcaagcg
gcaaaaccta cctgtactgg ctcttccaga aaccgggcaa agctccgaaa
cgcctgatct atctggtgtc taccctggat agcggtattc cgtctcgttt
ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt agctccctcc
agccggagga ctttgctacc tattactgcc tccagggcac tcattttccg
cacactttcg gccagggtac caaactggaa atcaaa

Região V 1519 gL20 (expressão de mamífero) SEQ ID NO: 17

gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga
tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg
gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa ggcaccaaaa
cggctgatct atctggtgtc taccccttgac tctgggatac cgtcacgatt
ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt tcatcgctgc
aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttccct
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaa

Região V 1519 gL20 com sequência de sinais sublinhada e em itálico (expressão de E. coli) SEQ ID NO: 18

*MKKTAIAIAV ALAGFATVAQ A*DIQMTQSPS SLSASVGDRV TITCKSSQSL
VGASGKTYLY WLFQKPGKAP KRLIYLVSTL DSGIPSRFSG SGSGTEFTLT
ISSLQPEDFA TYYCLQGTHF PHTFGQGTKL EIK

Região V 1519 gL20 com sequência de sinais sublinhada e em itálico (expressão de E. coli) SEQ ID NO: 19

atgaaaaaga cagctatcgc aattgcagtg gccttggctg gtttcgctac
*cgtagcgcaa gct*gatatcc agatgaccca gagtccaagc agtctctccg
ccagcgtagg cgatcgtgtg actattacct gtaaaagctc ccagtccctg
gtgggtgcaa gcggcaaaac ctacctgtac tggctcttcc agaaaccggg
caaagctccg aaacgcctga tctatctggt gtctaccctg gatagcggta
ttccgtctcg tttctccggt agcggtagcg gtaccgaatt cacgctgacc
attagctccc tccagccgga ggactttgct acctattact gcctccaggg
cactcatttt ccgcacactt tcggccaggg taccaaactg gaaatcaaa

FIGURA 1C

Região V 1519 gL20 com sequência de sinais sublinhada e em itálico (expressão de mamífero)

SEQ ID NO: 20

MSVPTQVLGL LLLWLTDARC DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV
GASGKTYLYW LFQKPGKAPK RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI
SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP HTFGQGTKLE IK

Região V 1519 gL20 com sequência de sinais sublinhada e em itálico (expressão de mamífero)

SEQ ID NO: 21

atgtctgtcc ccacccaagt cctcggactc ctgctactct ggcttacaga
tgccagatgc gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt
ccgttggtga tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg
ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa
ggcaccaaaa cggctgatct atctggtgtc taccttgac tctgggatac
cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt
tcatcgctgc aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac
tcatttccct cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaa

Cadeia leve 1519 gL20 (V + constante) SEQ ID NO: 22

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQKPGKAPK
RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP
HTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK
VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE
VTHQGLSSPV TKSFNRGEC

Cadeia leve 1519 gL20 (V + constante, expressão de E. coli) SEQ ID NO: 23

gatatccaga tgacccagag tccaagcagt ctctccgcca gcgtaggcga
tcgtgtgact attacctgta aaagctccca gtccctggtg ggtgcaagcg
gcaaaaccta cctgtactgg ctcttccaga aaccgggcaa agctccgaaa
cgcctgatct atctggtgtc taccctggat agcggtattc cgtctcgttt
ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt agctccctcc
agccggagga ctttgctacc tattactgcc tccagggcac tcattttccg
cacactttcg gccagggtac caaactggaa atcaaacgta cggtagcggc
cccatctgtc ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa
ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa
gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact cccaggagag
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcaccc
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa
gtcacccatc agggcctgag ctcaccagta acaaaaagtt ttaatagagg ggagtgt

FIGURA 1D

Cadeia leve 1519 gL20 (V + constante, expressão de mamífero) SEQ ID NO: 24

gatatccaga tgacccagag tccaagcagt ctctccgcca gcgtaggcga
tcgtgtgact attacctgta aaagctccca gtccctggtg ggtgcaagcg
gcaaaaccta cctgtactgg ctcttccaga aaccgggcaa agctccgaaa
cgcctgatct atctggtgtc taccctggat agcggtattc cgtctcgttt
ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt agctccctcc
agccggagga ctttgctacc tattactgcc tccagggcac tcattttccg
cacactttcg gccagggtac caaactggaa atcaaacgta cggtagcggc
cccatctgtc ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa
ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa
gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact cccaggagag
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcaccc
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa
gtcacccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt

Cadeia leve 1519 gL20 com sequência de sinais sublinhada e em itálico (Expressão de E.coli)

SEQ ID NO: 25

*MKKTAIAIAV ALAGFATVAQ A*DIQMTQSPS SLSASVGDRV TITCKSSQSL
VGASGKTYLY WLFQKPGKAP KRLIYLVSTL DSGIPSRFSG SGSGTEFTLT
ISSLQPEDFA TYYCLQGTHF PHTFGQGTKL EIKRTVAAPS VFIFPPSDEQ
LKSGTASVVC LLNNFYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVT EQDSKDSTYS
LSSTLTLSKA DYEKHKVYAC EVTHQGLSSP VTKSFNRGEC

Cadeia leve 1519 gL20 com sequência de sinais sublinhada e em itálico (Expressão de E.coli)

SEQ ID NO: 26

atgaaaaaga cagctatcgc aattgcagtg gccttggctg gtttcgctac
*cgtagcgcaa gct*gatatcc agatgaccca gagtccaagc agtctctccg
ccagcgtagg cgatcgtgtg actattacct gtaaaagctc ccagtccctg
gtgggtgcaa gcggcaaaac ctacctgtac tggctcttcc agaaaccggg
caaagctccg aaacgcctga tctatctggt gtctaccctg gatagcggta
ttccgtctcg tttctccggt agcggtagcg gtaccgaatt cacgctgacc
attagctccc tccagccgga ggactttgct acctattact gcctccaggg
cactcatttt ccgcacactt tcggccaggg taccaaactg gaaatcaaac
gtacggtagc ggccccatct gtcttcatct tcccgccatc tgatgagcag
ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc ctgctgaata acttctatcc
cagagaggcc aaagtacagt ggaaggtgga taacgccctc caatcgggta
actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc
ctcagcagca ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt
ctacgcctgc gaagtcaccc atcagggcct gagctcacca gtaacaaaaa
gttttaatag aggggagtgt

FIGURA 1E

cadeia leve de 1519 gL20 com sequência de sinal sublinhado e em itálico (expressão de mamífero) SEQ ID NO: 27

MSVPTQVLGL LLLWLTDARC DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV
GASGKTYLYW LFQKPGKAPK RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI
SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP HTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL
KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL
SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC

cadeia leve de 1519 gL20 com sequência de sinal sublinhado e em itálico (expressão de mamífero) SEQ ID NO: 28

atgtctgtcc ccacccaagt cctcggactc ctgctactct ggcttacaga
tgccagatgc gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt
ccgttggtga tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg
ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa
ggcaccaaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac tctgggatac
cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt
tcatcgctgc aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac
tcatttccct cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta
cggtagcggc cccatctgtc ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg
aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag
agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact
cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc
agcagcaccc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta
cgcctgcgaa gtcacccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct
tcaacagggg agagtgt

Região V 1519 gH20 SEQ ID NO: 29

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY
IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI
VRPFLYWGQG TLVTVS

Região V 1519 gH20 (Expressão de E. coli) SEQ ID NO: 30

gaggttccgc tggtcgagtc tggaggcggg cttgtccagc ctggagggag
cctgcgtctc tcttgtgcag tatctggctt cacgttctcc aactacggta
tggtgtgggt tcgtcaggct ccaggtaaag gtctggaatg ggtggcgtat
attgactccg acggcgacaa cacctactat cgcgactctg tgaaaggtcg
cttcaccatt tcccgcgata acgccaaatc cagcctgtac ctgcagatga
acagcctgcg tgctgaagat actgcggtgt actattgcac cactggcatc
gtgcgtccgt ttctgtattg gggtcagggt accctcgtta ctgtctcg

FIGURA 1F (sequências de sinal sublinhadas e em itálico)

Região V 1519 gH20 (Expressão de mamífero) SEQ ID NO: 31

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa
tggtctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg
cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctcactgtac ctgcagatga
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcg

Região V 1519 gH20 (Expressão de E. coli) SEQ ID NO: 32

*MKKTAIAIAV ALAGFATVAQ A*EVPLVESGG GLVQPGGSLR LSCAVSGFTF
SNYGMVWVRQ APGKGLEWVA YIDSDGDNTY YRDSVKGRFT ISRDNAKSSL
YLQMNSLRAE DTAVYYCTTG IVRPFLYWGQ GTLVTVS

Região V 1519 gH20 (Expressão de E. coli) SEQ ID NO: 33

atgaagaaga ctgctatagc aattgcagtg gcgctagctg gtttcgccac
*cgtggcgcaa gct*gaggttc cgctggtcga gtctggaggc gggcttgtcc
agcctggagg gagcctgcgt ctctcttgtg cagtatctgg cttcacgttc
tccaactacg gtatggtgtg ggttcgtcag gctccaggta aaggtctgga
atgggtggcg tatattgact ccgacggcga caacacctac tatcgcgact
ctgtgaaagg tcgcttcacc atttcccgcg ataacgccaa atccagcctg
tacctgcaga tgaacagcct gcgtgctgaa gatactgcgg tgtactattg
caccactggc atcgtgcgtc cgtttctgta ttggggtcag ggtaccctcg
ttactgtctc g

Região V 1519 gH20 (Expressão de mamífero) SEQ ID NO: 34

*MEWSWVFLFF LSVTTGVHS*E VPLVESGGGL VQPGGSLRLS CAVSGFTFSN
YGMVWVRQAP GKGLEWVAYI DSDGDNTYYR DSVKGRFTIS RDNAKSSLYL
QMNSLRAEDT AVYYCTTGIV RPFLYWGQGT LVTVS

Região V 1519 gH20 com sequência de sinais sublinhada e em itálico (Expressão de mamífero)

SEQ ID NO: 35

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt
*ccattct*gag gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg
gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat
tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt
ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga
aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac
gggaatcgtt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcg

FIGURA 1G

Cadeia pesada de Fab' 1519gH20 (V + gama-1 CH1 humano + articulação) EQ ID NO: 36

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY
IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI
VRPFLYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF
PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC
NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCAA

Cadeia pesada de Fab' 1519gH20 (V + gama-1 CH1 humano + articulação, Expressão de E. coli) SEQ ID NO: 37

gaggttccgc tggtcgagtc tggaggcggg cttgtccagc ctggagggag
cctgcgtctc tcttgtgcag tatctggctt cacgttctcc aactacggta
tggtgtgggt tcgtcaggct ccaggtaaag gtctggaatg ggtggcgtat
attgactccg acggcgacaa cacctactat cgcgactctg tgaaaggtcg
cttcaccatt tcccgcgata acgccaaatc cagcctgtac ctgcagatga
acagcctgcg tgctgaagat actgcggtgt actattgcac cactggcatc
gtgcgtccgt ttctgtattg gggtcagggt accctcgtta ctgtctcgag
cgcttctaca aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac tccctcagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttgagcc
caaatcttgt gacaaaactc acacatgcgc cgcg

Cadeia pesada de Fab' 1519gH20 (V + gama-1 CH1 humano + articulação, Expressão de mamífero) SEQ ID NO: 38

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa
tggtctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg
cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctcactgtac ctgcagatga
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag
cgcttctaca aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac tccctcagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttgagcc
caaatcttgt gacaaaactc acacatgcgc cgcg

FIGURA 1H

Cadeia pesada de Fab' 1519 gH20 com sequência de sinais sublinhada e em itálico (expressão de E. coli) SEQ ID NO: 39

*MKKTAIAIAV ALAGFATVAQ A*EVPLVESGG GLVQPGGSLR LSCAVSGFTF
SNYGMVWVRQ APGKGLEWVA YIDSDGDNTY YRDSVKGRFT ISRDNAKSSL
YLQMNSLRAE DTAVYYCTTG IVRPFLYWGQ GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA
PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL
YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCAA

Cadeia pesada de Fab' 1519 gH20 com sequência de sinais sublinhada e em itálico (expressão de E. coli) SEQ ID NO: 40

atgaagaaga ctgctatagc aattgcagtg gcgctagctg gtttcgccac
*cgtggcgcaa gct*gaggttc cgctggtcga gtctggaggc gggcttgtcc
agcctggagg gagcctgcgt ctctcttgtg cagtatctgg cttcacgttc
tccaactacg gtatggtgtg ggttcgtcag gctccaggta aaggtctgga
atgggtggcg tatattgact ccgacggcga caacacctac tatcgcgact
ctgtgaaagg tcgcttcacc atttcccgcg ataacgccaa atccagcctg
tacctgcaga tgaacagcct gcgtgctgaa gatactgcgg tgtactattg
caccactggc atcgtgcgtc cgtttctgta ttggggtcag ggtaccctcg
ttactgtctc gagcgcttct acaaagggcc catcggtctt ccccctggca
ccctcctcca agagcacctc tgggggcaca gcggccctgg gctgcctggt
caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac tcaggcgccc
tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc
tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca
gacctacatc tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtcgaca
agaaagttga gcccaaatct tgtgacaaaa ctcacacatg cgccgcg

Cadeia pesada de Fab' 1519 gH20 com sequência de sinais sublinhada e em itálico (expressão de mamífero) SEQ ID NO: 41

*MEWSWVFLFF LSVTTGVHS*E VPLVESGGGL VQPGGSLRLS CAVSGFTFSN
YGMVWVRQAP GKGLEWVAYI DSDGDNTYYR DSVKGRFTIS RDNAKSSLYL
QMNSLRAEDT AVYYCTTGIV RPFLYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS
SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS
LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCAA

FIGURA 1I

Cadeia pesada de Fab' 1519 gH20 com sequência de sinais sublinhada e em itálico (expressão de mamífero) SEQ ID NO: 42

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt
*ccattct*gag gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg
gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat
tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt
ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga
aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac
gggaatcgtt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg
tctcgagcgc ttctacaaag ggcccatcgg tcttcccccc ggcaccctcc
tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tggtcaagga
ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc gccctgacca
gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta
catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtc gacaagaaag
ttgagcccaa atcttgtgac aaaactcaca catgcgccgc g

Cadeia pesada de Fab' 1519 gH20 IgG4 (V + gama-4P humano constante) SEQ ID NO: 43

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY
IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI
VRPFLYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF
PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTKTYTC
NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLMI
SRTPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV
SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP
SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS
FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK

FIGURA 1J

Cadeia pesada de Fab' 1519 gH20 IgG4 (V + gama-4P humano constante, éxons sublinhados) SEQ ID NO: 44

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa
tggtctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg
cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctcactgtac ctgcagatga
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag
cgcttctaca aagggcccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga
gcacctccga gagcacagcc gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac tccctcagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttggtga
gaggccagca cagggaggga gggtgtctgc tggaagccag gctcagccct
cctgcctgga cgcaccccgg ctgtgcagcc ccagcccagg gcagcaaggc
atgccccatc tgtctcctca cccggaggcc tctgaccacc ccactcatgc
ccagggagag ggtcttctgg atttttccac caggctccgg gcagccacag
gctggatgcc cctaccccag gccctgcgca tacaggggca ggtgctgcgc
tcagacctgc caagagccat atccgggagg accctgcccc tgacctaagc
ccaccccaaa ggccaaactc tccactccct cagctcagac accttctctc
ctcccagatc tgagtaactc ccaatcttct ctctgcagag tccaaatatg
gtcccccatg cccaccatgc ccaggtaagc caacccaggc ctcgccctcc
agctcaaggc gggacaggtg ccctagagta gcctgcatcc agggacaggc
cccagccggg tgctgacgca tccacctcca tctcttcctc agcacctgag
ttcctggggg gaccatcagt cttcctgttc cccccaaaac ccaaggacac
tctcatgatc tcccggaccc ctgaggtcac gtgcgtggtg gtggacgtga
gccaggaaga ccccgaggtc cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag
gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagttca acagcacgta
ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaacggca
aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag
aaaaccatct ccaaagccaa aggtgggacc cacggggtgc gagggccaca
tggacagagg tcagctcggc ccaccctctg ccctgggagt gaccgctgtg
ccaacctctg tccctacagg gcagccccga gagccacagg tgtacaccct
gcccccatcc caggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc
tggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat
gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga
cggctccttc ttcctctaca gcaggctaac cgtggacaag agcaggtggc
aggaggggaa tgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac
cactacacac agaagagcct ctccctgtct ctgggtaaa

FIGURA 1K

Cadeia pesada de Fab' 1519 IgH20 IgG4 (V + gama-4P humano constante) com sequência de sinais sublinhada e em itálico SEQ ID NO: 45

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt
*ccattct*gag gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg
gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat
tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt
ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga
aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac
gggaatcgtt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg
tctcgagcgc ttctacaaag ggcccatccg tcttcccccc ggcgccctgc
tccaggagca cctccgagag cacagccgcc ctgggctgcc tggtcaagga
ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc gccctgacca
gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cgaagaccta
cacctgcaac gtagatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagagag
ttggtgagag gccagcacag ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct
cagccctcct gcctggacgc accccggctg tgcagcccca gcccagggca
gcaaggcatg ccccatctgt ctcctcaccc ggaggcctct gaccacccca
ctcatgccca gggagagggt cttctggatt tttccaccag gctccgggca
gccacaggct ggatgcccct accccaggcc ctgcgcatac aggggcaggt
gctgcgctca gacctgccaa gagccatatc cgggaggacc ctgcccctga
cctaagccca ccccaaaggc caaactctcc actccctcag ctcagacacc
ttctctcctc ccagatctga gtaactccca atcttctctc tgcagagtcc
aaatatggtc ccccatgccc accatgccca ggtaagccaa cccaggcctc
gccctccagc tcaaggcggg acaggtgccc tagagtagcc tgcatccagg
gacaggcccc agccgggtgc tgacgcatcc acctccatct cttcctcagc
acctgagttc ctgggggggac catcagtctt cctgttcccc ccaaaaccca
aggacactct catgatctcc cggacccctg aggtcacgtg cgtggtggtg
gacgtgagcc aggaagaccc cgaggtccag ttcaactggt acgtggatgg
cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagttcaaca
gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg
aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaaggcc tcccgtcctc
catcgagaaa accatctcca aagccaaagg tgggacccac ggggtgcgag
ggccacatgg acagaggtca gctcggccca ccctctgccc tgggagtgac
cgctgtgcca acctctgtcc ctacagggca gccccgagag ccacaggtgt
acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg
acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga
gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg
actccgacgg ctccttcttc ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc
aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct
gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctctg ggtaaa

FIGURA 1L

Cadeia leve de FabFv 1519gL20 SEQ ID NO: 46

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQKPGKAPK
RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP
HTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK
VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE
VTHQGLSSPV TKSFNRGECS GGGGSGGGGS GGGGSDIQMT QSPSSVSASV
GDRVTITCQS SPSVWSNFLS WYQQKPGKAP KLLIYEASKL TSGVPSRFSG
SGSGTDFTLT ISSLQPEDFA TYYCGGGYSS ISDTTFGCGT KVEIKRT

Cadeia leve de FabFv 1519gL20 SEQ ID NO: 47

gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga
tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg
gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa ggcaccaaaa
cggctgatct atctggtgtc tacccttgac tctgggatac cgtcacgatt
ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt tcatcgctgc
aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttccct
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta cggtagcggc
cccatctgtc ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa
ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa
gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact cccaggagag
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctg agcagcaccc
tgacgctgtc taaagcagac tacgagaaac acaaagtgta cgcctgcgaa
gtcacccatc agggcctgag ctcaccagta acaaaaagtt ttaatagagg
ggagtgtagc ggtggcggtg gcagtggtgg gggaggctcc ggaggtggcg
gttcagacat acaaatgacc cagagtcctt catcggtatc cgcgtccgtt
ggcgataggg tgactattac atgtcaaagc tctcctagcg tctggagcaa
ttttctatcc tggtatcaac agaaaccggg gaaggctcca aaacttctga
tttatgaagc ctcgaaactc accagtggag ttccgtcaag attcagtggc
tctggatcag ggacagactt cacgttgaca atcagttcgc tgcaaccaga
ggactttgcg acctactatt gtggtggagg ttacagtagc ataagtgata
cgacatttgg gtgcggtact aaggtggaaa tcaaacgtac c

Cadeia leve de FabFv 1519gL20 com sequência de sinais sublinhada e em itálico SEQ ID NO: 48

MSVPTQVLGL LLLWLTDARC DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV
GASGKTYLYW LFQKPGKAPK RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI
SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP HTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL
KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL
SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGECS GGGGSGGGGS
GGGGSDIQMT QSPSSVSASV GDRVTITCQS SPSVWSNFLS WYQQKPGKAP
KLLIYEASKL TSGVPSRFSG SGSGTDFTLT ISSLQPEDFA TYYCGGGYSS
ISDTTFGCGT KVEIKRT

FIGURA 1M

Cadeia leve de FabFv 1519gL20 com sequência de sinais sublinhada e em itálico SEQ ID NO: 49

atgtctgtcc ccacccaagt cctcggactc ctgctactct ggcttacaga
tgccagatgc gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt
ccgttggtga tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg
ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa
ggcaccaaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac tctgggatac
cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt
tcatcgctgc aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac
tcatttccct cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta
cggtagcggc cccatctgtc ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg
aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag
agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact
cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctg
agcagcaccc tgacgctgtc taaagcagac tacgagaaac acaaagtgta
cgcctgcgaa gtcacccatc agggcctgag ctcaccagta acaaaaagtt
ttaatagagg ggagtgtagc ggtggcggtg gcagtggtgg gggaggctcc
ggaggtggcg gttcagacat acaaatgacc cagagtcctt catcggtatc
cgcgtccgtt ggcgataggg tgactattac atgtcaaagc tctcctagcg
tctggagcaa ttttctatcc tggtatcaac agaaaccggg gaaggctcca
aaacttctga tttatgaagc ctcgaaactc accagtggag ttccgtcaag
attcagtggc tctggatcag ggacagactt cacgttgaca atcagttcgc
tgcaaccaga ggactttgcg acctactatt gtggtggagg ttacagtagc
ataagtgata cgacatttgg gtgcggtact aaggtggaaa tcaaacgtac
c

Cadeia pesada de FabFv 1519gH20 SEQ ID NO: 50

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY
IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI
VRPFLYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF
PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC
NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC SGGGGSGGGG TGGGGSEVQL LESGGGLVQP
GGSLRLSCAV SGIDLSNYAI NWVRQAPGKC LEWIGIIWAS GTTFYATWAK
GRFTISRDNS KNTVYLQMNS LRAEDTAVYY CARTVPGYST APYFDLWGQG TLVTVSS

FIGURA 1N

Cadeia pesada de FabFv 1519gH20 SEQ ID NO: 51

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa
tggtctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg
cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctcactgtac ctgcagatga
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag
cgcgtccaca aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc
cccgaaccag tgacggtgtc gtggaactca ggtgccctga ccagcggcgt
tcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac tccctgagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgataaga aagttgagcc
caaatcttgt agtggaggtg ggggctcagg tggaggcggg accggtggag
gtggcagcga ggttcaactg cttgagtctg gaggaggcct agtccagcct
ggagggagcc tgcgtctctc ttgtgcagta agcggcatcg acctgagcaa
ttacgccatc aactgggtga gacaagctcc ggggaagtgt ttagaatgga
tcggtataat atgggccagt gggacgacct tttatgctac atgggcgaaa
ggaaggttta caattagccg ggacaatagc aaaaacaccg tgtatctcca
aatgaactcc ttgcgagcag aggacacggc ggtgtactat tgtgctcgca
ctgtcccagg ttatagcact gcaccctact tcgatctgtg gggacaaggg
accctggtga ctgtttcaag t

Cadeia pesada de FabFv 1519gH20 com sequência de sinais sublinhada e em itálico SEQ ID NO: 52

*MEWSWVFLFF LSVTTGVHS*E VPLVESGGGL VQPGGSLRLS CAVSGFTFSN
YGMVWVRQAP GKGLEWVAYI DSDGDNTYYR DSVKGRFTIS RDNAKSSLYL
QMNSLRAEDT AVYYCTTGIV RPFLYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS
SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS
LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCS GGGGSGGGGT
GGGGSEVQLL ESGGGLVQPG GSLRLSCAVS GIDLSNYAIN WVRQAPGKCL
EWIGIIWASG TTFYATWAKG RFTISRDNSK NTVYLQMNSL RAEDTAVYYC
ARTVPGYSTA PYFDLWGQGT LVTVSS

FIGURA 1P

Cadeia pesada de FabFv 1519gH20 com sequência de sinais sublinhada e em itálico SEQ ID NO: 53

*atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattct*gag gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg
gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat
tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt
ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga
aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac
gggaatcgtt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg
tctcgagcgc gtccacaaag ggcccatcgg tcttcccccc ggcaccctcc
tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tggtcaagga
ctacttcccc gaaccagtga cggtgtcgtg gaactcaggt gccctgacca
gcggcgttca caccttcccg gctgtcctac agtcttcagg actctactcc
ctgagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta
catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtc gataagaaag
ttgagcccaa atcttgtagt ggaggtgggg gctcaggtgg aggcgggacc
ggtggaggtg gcagcgaggt tcaactgctt gagtctggag gaggcctagt
ccagcctgga gggagcctgc gtctctcttg tgcagtaagc ggcatcgacc
tgagcaatta cgccatcaac tgggtgagac aagctccggg gaagtgttta
gaatggatcg gtataatatg ggccagtggg acgacctttt atgctacatg
ggcgaaagga aggtttacaa ttagccggga caatagcaaa aacaccgtgt
atctccaaat gaactccttg cgagcagagg acacggcggt gtactattgt
gctcgcactg tcccaggtta tagcactgca ccctacttcg atctgtgggg
acaagggacc ctggtgactg tttcaagt

Arcabouço aceitador VK1 2-1-(1) A30 JK2 Humano SEQ ID NO: 54

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NDLGWYQQKP GKAPKRLIYA
ASSLQSGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HNSYPYTFGQ GTKLEIK

Arcabouço aceitador VK1 2-1-(1) A30 JK2 Humano SEQ ID NO: 55

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga
cagagtcacc atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag
gctggtatca gcagaaacca gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct
gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca aggttcagcg gcagtggatc
tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct gaagattttg
caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccttacac ttttggccag
gggaccaagc tggagatcaa a

FIGURA 1Q

Arcabouço aceitador VH3 1-3 3-07 JH4 Humano SEQ ID NO: 56

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMSWVRQA PGKGLEWVAN
IKQDGSEKYY VDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARYF
DYWGQGTLVT VS

Arcabouço aceitador VH3 1-3 3-07 JH4 Humano SEQ ID NO: 57

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggtc
cctgagactc tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agctattgga
tgagctgggt ccgccaggct ccagggaagg ggctggagtg ggtggccaac
ataaagcaag atggaagtga gaaatactat gtggactctg tgaagggccg
attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactgtat ctgcaaatga
acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagatacttt
gactactggg gccagggaac cctggtcacc gtctcc

Região VL 1548 de Ab de Rato SEQ ID NO: 58

DVVMTQTPLS LSVALGQPAS ISCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQRSGQSPK
RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLQGTHFP
HTFGAGTKLE IK

Região VL 1548 de Ab de Rato SEQ ID NO: 59

gatgttgtga tgacccagac tccactgtct ttgtcggttg cccttggaca
accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagtg
gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag
cgactaatct atctggtgtc cacactggac tctggaattc ctgataggtt
cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg
aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtac acattttcct
cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ataaaa

Região VH 1548 de Ab de Rato SEQ ID NO: 60

EVPLVESGGG SVQPGRSMKL SCVVSGFTFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY
IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTTGI
VRPFLYWGQG VMVTVS

FIGURA 1R

Região VH 1548 de Ab de Rato SEQ ID NO: 61

gaggtgccgc tggtggagtc tgggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc
catgaaactc tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aattatggca
tggtctgggt ccgccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat
attgattctg atggtgataa tacttactac cgagattccg tgaagggccg
attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaatgg
acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt
gtccggccct ttctctattg gggccaagga gtcatggtca cagtctcg

Região VL 1644 de Ab de Rato SEQ ID NO: 62

DVVMTQTPLS LSVAIGQPAS ISCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQRSGQSPK
RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLQGTHFP
HTFGAGTKLE LK

Região VL 1644 de Ab de Rato SEQ ID NO: 63

gatgttgtga tgacccagac tccactgtct ttgtcggttg ccattggaca
accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagtg
gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag
cgactaatct atctggtgtc cacactggac tctggaattc ctgataggtt
cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg
aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtac acattttcct
cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ctgaaa

Região VH 1644 de Ab de Rato SEQ ID NO: 64

EVPLVESGGG SVQPGRSTKL SCVVSGFTFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY
IGSDGDNIYY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTTGI
VRPFLYWGQG TTVTVS

Região VH 1644 de Ab de Rato SEQ ID NO: 65

gaggtgccgc tggtggagtc tgggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc
cacgaaactc tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aactatggca
tggtctgggt ccgccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat
attggttctg atggtgataa tatttactac cgagattccg tgaagggtcg
attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaatgg
acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt
gtccggccct ttctctactg gggccaagga accacggtca ccgtctcg

FIGURA 1S

Região VK 1496 Ab de rato SEQ ID NO: 66

DVVMTQTPLS LSVALGQPAS ISCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQRSGQSPK
RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLQGTHFP
HTFGAGTKLE LK

Região VK 1496 Ab de rato SEQ ID NO: 67

gatgttgtga tgacccagac tccactgtct ttgtcggttg cccttggaca
accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagtg
gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag
cgactaatct atctggtgtc cacactggac tctggaattc ctgataggtt
cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg
aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtac acattttcct
cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ctgaaa

Região VH 1496 Ab de rato SEQ ID NO: 68

EVLLVESGGG SVQPGRSMKL SCVVSGFTFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY
IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTTGI
VRPFLYWGQG TMVTVS

Região VH 1496 Ab de rato SEQ ID NO: 69

gaggtgctgc tggtggagtc tgggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc
catgaaactc tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aattatggca
tggtctgggt ccgccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat
attgattctg atggtgataa tacttactac cgagattccg tgaagggccg
attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaatgg
acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt
gtccggccct ttctctattg gggccaagga accatggtca ccgtctcg

Cadeia pesada de IgG1 1519gH20 (V + gama-1 humano constante) SEQ ID NO:72

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY IDSDGDNTYY
RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI VRPFLYWGQG TLVTVSSAST
KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY
SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCP APELLGGPSV
FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY
RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSRDELTK
NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG
NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK

FIGURA 1T

Cadeia pesada de IgG1 1519gH20 (V + gama-1 humano constante, éxons sublinhados) SEQ ID NO:73

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag tttacgtctc
tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggtctgggt cagacaagca
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat
cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctcactgtac
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag cgcttctaca
aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttggtga gaggccagca
cagggaggga gggtgtctgc tggaagccag gctcagcgct cctgcctgga cgcatcccgg
ctatgcagcc ccagtccagg gcagcaaggc aggccccgtc tgcctcttca cccggaggcc
tctgcccgcc ccactcatgc tcagggagag ggtcttctgg ctttttcccc aggctctggg
caggcacagg ctaggtgccc ctaacccagg ccctgcacac aaaggggcag gtgctgggct
cagacctgcc aagagccata tccgggagga ccctgcccct gacctaagcc caccccaaag
gccaaactct ccactccctc agctcggaca ccttctctcc tcccagatct gagtaactcc
caatcttctc tctgcagagc ccaaatcttg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc
aggtaagcca gcccaggcct cgccctccag ctcaaggcgg gacaggtgcc ctagagtagc
ctgcatccag ggacaggccc cagccgggtg ctgacacgtc cacctccatc tcttcctcag
cacctgaact cctgggggga ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc
tcatgatctc ccggaccccc gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc
ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc
cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc
aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc
ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag gtgggacccg tggggtgcga gggccacatg
gacagaggcc ggctcggccc accctctgcc ctgagagtga ccgctgtacc aacctctgtc
cctacagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa

FIGURA 1U

Cadeia pesada de IgG1 1519gH20 (V + gama-1 humano constante) com sequência de sinais sublinhada e em itálico SEQ ID NO:74

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag
gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcgtt
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc ttctacaaag
ggcccatcgg tcttcccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc
ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtc gacaagaaag ttggtgagag gccagcacag
ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct cagcgctcct gcctggacgc atcccggcta
tgcagcccca gtccagggca gcaaggcagg ccccgtctgc ctcttcaccc ggaggcctct
gcccgcccca ctcatgctca gggagagggt cttctggctt tttccccagg ctctgggcag
gcacaggcta ggtgccccta acccaggccc tgcacacaaa ggggcaggtg ctgggctcag
acctgccaag agccatatcc gggaggaccc tgcccctgac ctaagcccac cccaaaggcc
aaactctcca ctccctcagc tcggacacct tctctcctcc cagatctgag taactcccaa
tcttctctct gcagagccca aatcttgtga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagg
taagccagcc caggcctcgc cctccagctc aaggcgggac aggtgcccta gagtagcctg
catccaggga caggccccag ccgggtgctg acacgtccac ctccatctct tcctcagcac
ctgaactcct gggggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca
tgatctcccg gacccctgag gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg
aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc
gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg
actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca
tcgagaaaac catctccaaa gccaaaggtg ggacccgtgg ggtgcgaggg ccacatggac
agaggccggc tcggcccacc ctctgccctg agagtgaccg ctgtaccaac ctctgtccct
acagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga tgagctgacc
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac
tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag
agcctctccc tgtctccgggtaaa

FIGURA 1V

Cadeia leve 1519 gL20 (V + constante, expressão de mamífero alternativa) SEQ ID NO: 75

```
gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga
tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg
gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa ggcaccaaaa
cggctgatct atctggtgtc taccttgac tctgggatac cgtcacgatt
ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt tcatcgctgc
aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttccct
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta cggtagcggc
cccatctgtc ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa
ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa
gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact cccaggagag
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcaccc
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa
gtcacccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt
```

Cadeia pesada de Fab' 1519gH2O (V + gama-1 CH1 humano + articulação, uma mudança de base de expressão de mamífero a partir da SEQ ID NO:38) SEQ ID NO: 76

```
gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa
tggtctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg
cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctcactgtac ctgcagatga
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag
cgcttctaca aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac tccctcagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc
caaatcttgt gacaaaactc acacatgcgc cgcg
```

Cadeia pesada de Fab' 1519gH2O com sequência de sinais sublinhada e em itálico (uma base de expressão de mamífero mudada a partir da SEQ ID NO: 42) SEQ ID NO: 77

```
atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt
ccattctgag gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg
gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat
tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt
ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga
aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac
gggaatcgtt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg
tctcgagcgc ttctacaaag ggcccatcgg tcttcccccc ggcaccctcc
tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tggtcaagga
ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc gccctgacca
gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta
catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag
ttgagcccaa atcttgtgac aaaactcaca catgcgccgc g
```

FIGURA 1W

Cadeia leve de FabFv 1519gL20 (sequência alternativa à SEQ ID NO: 46) SEQ ID NO: 78

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQKPGKAPK
RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP
HTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK
VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE
VTHQGLSSPV TKSFNRGECG GGGSGGGGSG GGGSDIQMTQ SPSSVSASVG
DRVTITCQSS PSVWSNFLSW YQQKPGKAPK LLIYEASKLT SGVPSRFSGS
GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCGGGYSSI SDTTFGCGTK VEIKRT

Cadeia leve de FabFv 1519gL20 (sequência alternativa à SEQ ID NO: 47) SEQ ID NO: 79

gacatccaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga
cagagtgacc atcacatgca agtcctccca gtccctggtc ggagcctccg
gcaagaccta cctgtactgg ctgttccaga agcccggcaa ggcccccaag
cggctgatct acctggtgtc taccctggac tccggcatcc cctcccggtt
ctccggctct ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc tccagcctgc
agcccgagga cttcgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc
cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaagcgga ccgtagcggc
cccatctgtc ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa
ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa
gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact cccaggagag
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcaccc
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa
gtcacccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct tcaacagggg
agagtgtggt ggaggtggct ctggcggtgg tggctccgga ggcggaggaa
gcgacatcca gatgacccag agcccttcct ctgtaagcgc cagtgtcgga
gacagagtga ctattacctg ccaaagctcc ccttcagtct ggtccaattt
tctatcctgg tatcagcaaa agcccggaaa ggctcctaaa ttgctgatct
acgaagcaag caaactcacc agcggcgtgc ccagcaggtt cagcggcagt
gggtctggaa ctgactttac cctgacaatc tcctcactcc agcccgagga
cttcgccacc tattactgcg gtggaggtta cagtagcata agtgatacga
catttggatg cggcactaaa gtggaaatca agcgtacc

FIGURA 1X

Cadeia pesada de FabFv 1519gH2O (sequência alternativa à SEQ ID NO: 51) SEQ ID NO: 80

gaggtgcccc tggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggctc
cctgagactg tcttgcgccg tgtccggctt caccttctcc aactacggca
tggtctgggt ccgacaggct cctggcaagg gactggaatg ggtggcctac
atcgactccg acggcgacaa cacctactac cgggactccg tgaagggccg
gttcaccatc tcccgggaca acgccaagtc ctccctgtac ctgcagatga
actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcac caccggcatc
gtgcggccct ttctgtactg gggccagggc accctggtca ccgtgtcctc
tgcttctaca aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc tggactctac tccctcagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc
caaatcttgt tccggaggtg gcggttccgg aggtggcggt acaggtggcg
gtgggtccga agtccagctg cttgaatccg gaggcggact cgtgcagccc
ggaggcagtc ttcgcttgtc ctgcgctgta tctggaatcg acctgagcaa
ttacgccatc aactgggtga gacaggcacc tgggaaatgc ctcgaatgga
tcggcattat atgggctagt gggacgacct tttatgctac atgggcgaag
ggtagattca caatctcacg ggataatagt aagaacacag tgtacctgca
gatgaactcc ctgcgagcag aggataccgc cgtttactat tgtgctcgca
ctgtcccagg ttatagcact gcaccctact ttgatctgtg ggggcagggc
actctggtca ccgtctcgtc c

FIGURA 1Y (sequências de sinal sublinhadas e em itálico)

Região VL 1548 de Ab de rato (sequência alternativa à SEQ ID NO: 58) SEQ ID NO: 81

DVVMTQTPLS LSVAIGQPAS ISSKSSQSLV GAGGKTYLYW LLQRSGQSPK
RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLQGTHFP
HTFGAGTNLE IK

Região VL 1548 de Ab de rato (sequência alternativa à SEQ ID NO: 59) SEQ ID NO: 82

gatgttgtga tgacccagac tccactgtct ttgtcggttg ccattggaca
accagcctcc atctcttcta agtcaagtca gagcctcgta ggtgctggtg
gaaagacata tttgtattgg ttattacaga ggtccggcca gtctccaaag
cgactaatct atctggtgtc cacactggac tctggaattc ctgataggtt
cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg
aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtac acattttcct
cacacgtttg gagctgggac caacctggaa ataaaa

Região VL 1548 de Ab de rato (sequência alternativa à SEQ ID NO: 60) SEQ ID NO: 83

EVPLVESGGG SVQPGRSMKL SCVVSGFTFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY
IGSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTTGI
VRPFLYWGQG VMVTVS

Região VL 1548 de Ab de rato (sequência alternativa à SEQ ID NO: 61) SEQ ID NO: 84

gaggtgccgc tggtggagtc tgggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc
catgaaactc tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aactatggca
tggtctgggt ccgccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat
attggttctg atggtgataa tacttactac cgagattccg tgaagggccg
attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaatgg
acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt
gtccggccct ttctctactg gggccaagga gtcatggtca cagtctcg

FIGURA 1Z

Cadeia pesada de IgG1 1519gH20 (V + gama-1 humano constante, uma mudança de base de éxons sublinhados à SEQ ID NO:71) SEQ ID NO: 85

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag tttacgtctc
tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggtctgggt cagacaagca
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat
cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctcactgtac
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag cgcttctaca
aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttggtga gaggccagca
cagggaggga gggtgtctgc tggaagccag gctcagcgct cctgcctgga cgcatcccgg
ctatgcagcc ccagtccagg gcagcaaggc aggccccgtc tgcctcttca cccggaggcc
tctgcccgcc ccactcatgc tcagggagag ggtcttctgg ctttttcccc aggctctggg
caggcacagg ctaggtgccc ctaacccagg ccctgcacac aaaggggcag gtgctgggct
cagacctgcc aagagccata tccgggagga ccctgcccct gacctaagcc caccccaaag
gccaaactct ccactccctc agctcggaca ccttctctcc tcccagatct gagtaactcc
caatcttctc tctgcagagc ccaaatcttg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc
aggtaagcca gcccaggcct cgccctccag ctcaaggcgg gacaggtgcc ctagagtagc
ctgcatccag ggacaggccc cagccgggtg ctgacacgtc cacctccatc tcttcctcag
cacctgaact cctgggggga ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc
tcatgatctc ccggaccccc gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc
ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc
cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc
aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc
ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag gtgggacccg tggggtgcga gggccacatg
gacagaggcc ggctcggccc accctctgcc ctgagagtga ccgctgtacc aacctctgtc
cctacagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa

FIGURA 1AA

Cadeia pesada de IgG1 1519gH20 (V + gama-1 humano constante) com sequência de sinais sublinhada e em itálico (uma mudança de base a partir da SEQ ID NO: 72) SEQ ID NO:86

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag
gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcgtt
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc ttctacaaag
ggcccatcgg tcttcccccc ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc
ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttggtgagag gccagcacag
ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct cagcgctcct gcctggacgc atcccggcta
tgcagcccca gtccagggca gcaaggcagg ccccgtctgc ctcttcaccc ggaggcctct
gcccgcccca ctcatgctca gggagagggt cttctggctt tttccccagg ctctgggcag
gcacaggcta ggtgccccta acccaggccc tgcacacaaa ggggcaggtg ctgggctcag
acctgccaag agccatatcc gggaggaccc tgcccctgac ctaagcccac cccaaaggcc
aaactctcca ctccctcagc tcggacacct tctctcctcc cagatctgag taactcccaa
tcttctctct gcagagccca aatcttgtga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagg
taagccagcc caggcctcgc cctccagctc aaggcgggac aggtgcccta gagtagcctg
catccaggga caggccccag ccgggtgctg acacgtccac ctccatctct tcctcagcac
ctgaactcct gggggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca
tgatctcccg gacccctgag gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg
aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc
gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg
actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca
tcgagaaaac catctccaaa gccaaaggtg ggacccgtgg ggtgcgaggg ccacatggac
agaggccggc tcggcccacc ctctgccctg agagtgaccg ctgtaccaac ctctgtccct
acagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga tgagctgacc
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac
tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag
agcctctccc tgtctccgggtaaa

Cadeia pesada de IgG4 1519gH20 (V + gama-4 humano constante sem mutações de P) SEQ ID NO:87

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY
IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI
VRPFLYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF
PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTKTYTC
NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPSCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLMI
SRTPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV
SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP
SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS
FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK

FIGURA 1BB

Cadeia pesada de IgG4 1519gH20 (V + gama-4 humano constante, éxons sublinhados sem mutações de P) SEQ ID NO:88

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa
tggtctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg
cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctcactgtac ctgcagatga
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag
cgcttctaca aagggcccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga
gcacctccga gagcacagcc gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac tccctcagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttggtga
gaggccagca cagggaggga gggtgtctgc tggaagccag gctcagccct
cctgcctgga cgcaccccgg ctgtgcagcc ccagcccagg gcagcaaggc
atgccccatc tgtctcctca cccggaggcc tctgaccacc ccactcatgc
ccagggagag ggtcttctgg atttttccac caggctccgg gcagccacag
gctggatgcc cctaccccag gccctgcgca tacaggggca ggtgctgcgc
tcagacctgc caagagccat atccgggagg accctgcccc tgacctaagc
ccaccccaaa ggccaaactc tccactccct cagctcagac accttctctc
ctcccagatc tgagtaactc ccaatcttct ctctgcagag tccaaatatg
gtcccccatg cccatcatgc ccaggtaagc caacccaggc ctcgccctcc
agctcaaggc gggacaggtg ccctagagta gcctgcatcc agggacaggc
cccagccggg tgctgacgca tccacctcca tctcttcctc agcacctgag
ttcctgggggg gaccatcagt cttcctgttc cccccaaaac ccaaggacac
tctcatgatc tcccggaccc ctgaggtcac gtgcgtggtg gtggacgtga
gccaggaaga ccccgaggtc cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag
gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagttca acagcacgta
ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaacggca
aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag
aaaaccatct ccaaagccaa aggtgggacc cacggggtgc gagggccaca
tggacagagg tcagctcggc ccaccctctg ccctgggagt gaccgctgtg
ccaacctctg tccctacagg gcagccccga gagccacagg tgtacaccct
gcccccatcc caggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc
tggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat
gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga
cggctccttc ttcctctaca gcaggctaac cgtggacaag agcaggtggc
aggaggggaa tgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac
cactacacac agaagagcct ctccctgtct ctgggtaaa

FIGURA 1CC

Cadeia pesada de IgG4 1519gH20 (V + gama-4 humano constante) com sequência de sinais sublinhada e em itálico - sem mutações de P SEQ ID NO:89

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt
*ccattct*gag gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg
gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat
tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt
ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga
aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac
gggaatcgtt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg
tctcgagcgc ttctacaaag ggcccatccg tcttcccccc ggcgccctgc
tccaggagca cctccgagag cacagccgcc ctgggctgcc tggtcaagga
ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc gccctgacca
gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cgaagaccta
cacctgcaac gtagatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagagag
ttggtgagag gccagcacag ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct
cagccctcct gcctggacgc accccggctg tgcagcccca gcccagggca
gcaaggcatg ccccatctgt ctcctcaccc ggaggcctct gaccacccca
ctcatgccca gggagagggt cttctggatt tttccaccag gctccgggca
gccacaggct ggatgcccct accccaggcc ctgcgcatac aggggcaggt
gctgcgctca gacctgccaa gagccatatc cgggaggacc ctgcccctga
cctaagccca ccccaaaggc caaactctcc actcctcag ctcagacacc
ttctctcctc ccagatctga gtaactccca atcttctctc tgcagagtcc
aaatatggtc ccccatgccc atcatgccca ggtaagccaa cccaggcctc
gccctccagc tcaaggcggg acaggtgccc tagagtagcc tgcatccagg
gacaggcccc agccgggtgc tgacgcatcc acctccatct cttcctcagc
acctgagttc ctgggggggac catcagtctt cctgttcccc ccaaaaccca
aggacactct catgatctcc cggacccctg aggtcacgtg cgtggtggtg
gacgtgagcc aggaagaccc cgaggtccag ttcaactggt acgtggatgg
cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagttcaaca
gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg
aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaaggcc tcccgtcctc
catcgagaaa accatctcca aagccaaagg tgggacccac ggggtgcgag
ggccacatgg acagaggtca gctcggccca ccctctgccc tgggagtgac
cgctgtgcca acctctgtcc ctacagggca gccccgagag ccacaggtgt
acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg
acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga
gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg
actccgacgg ctccttcttc ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc
aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct
gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctctg ggtaaa

FIGURA 1DD

Região V 1519 gL20 (expressão de mamífero alternativa à SEQ ID NO: 17) SEQ ID NO:90

```
gacatccaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga
cagagtgacc atcacatgca agtcctccca gtccctggtc ggagcctccg
gcaagaccta cctgtactgg ctgttccaga agcccggcaa ggcccccaag
cggctgatct acctggtgtc taccctggac tccggcatcc cctcccggtt
ctccggctct ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc tccagcctgc
agcccgagga cttcgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc
cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaag
```

Cadeia leve 1519 gL20 (V + constante, expressão de mamífero alternativa à SEQ ID NO: 24)

SEQ ID NO:91

```
gacatccaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga
cagagtgacc atcacatgca agtcctccca gtccctggtc ggagcctccg
gcaagaccta cctgtactgg ctgttccaga agcccggcaa ggcccccaag
cggctgatct acctggtgtc taccctggac tccggcatcc cctcccggtt
ctccggctct ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc tccagcctgc
agcccgagga cttcgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc
cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaagcgga ccgtggccgc
tccctccgtg ttcatcttcc caccctccga cgagcagctg aagtccggca
ccgcctccgt cgtgtgcctg ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag
gtgcagtgga aggtggacaa cgccctgcag tccggcaact cccaggaatc
cgtcaccgag caggactcca aggacagcac ctactccctg tcctccaccc
tgaccctgtc caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgaa
gtgacccacc agggcctgtc cagccccgtg accaagtcct tcaaccgggg
cgagtgc
```

FIGURA 1EE

Região V 1519 gH2O (expressão de mamífero alternativa à SEQ ID NO: 31) SEQ ID NO:92

gaggtgcccc tggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggctc
cctgagactg tcttgcgccg tgtccggctt caccttctcc aactacggca
tggtctgggt ccgacaggct cctggcaagg gactggaatg ggtggcctac
atcgactccg acggcgacaa cacctactac cgggactccg tgaagggccg
gttcaccatc tcccgggaca acgccaagtc ctccctgtac ctgcagatga
actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcac caccggcatc
gtgcggccct ttctgtactg gggccagggc accctggtca ccgtgtcc

FIGURA 1FF

Cadeia pesada de IgG4 1519gH2O (V + gama-4P humano constante alternativo à

SEQ ID NO: 44) SEQ ID NO:93

```
gaggtgcccc tggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggctc
cctgagactg tcttgcgccg tgtccggctt caccttctcc aactacggca
tggtctgggt ccgacaggct cctggcaagg gactggaatg ggtggcctac
atcgactccg acggcgacaa cacctactac cgggactccg tgaagggccg
gttcaccatc tcccgggaca acgccaagtc ctccctgtac ctgcagatga
actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcac caccggcatc
gtgcggccct ttctgtactg gggccagggc accctggtca ccgtgtcctc
tgcctccacc aagggcccct ccgtgttccc tctggccct tgctcccggt
ccacctccga gtctaccgcc gctctgggct gcctggtcaa ggactacttc
cccgagcccg tgacagtgtc ctggaactct ggcgccctga cctccggcgt
gcacaccttc cctgccgtgc tgcagtcctc cggcctgtac tccctgtcct
ccgtcgtgac cgtgccctcc tccagcctgg gcaccaagac ctacacctgt
aacgtggacc acaagccctc caacaccaag gtggacaagc gggtggaatc
taagtacggc cctccctgcc ccccctgccc tgcccctgaa tttctgggcg
gaccttccgt gttcctgttc cccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc
tcccggaccc ccgaagtgac ctgcgtggtg gtggacgtgt cccaggaaga
tcccgaggtc cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa gtgcacaatg
ccaagaccaa gcccagagag gaacagttca actccaccta ccgggtggtg
tccgtgctga ccgtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aagagtacaa
gtgcaaggtg tccaacaagg gcctgccctc cagcatcgaa aagaccatct
ccaaggccaa gggccagccc cgcgagcccc aggtgtacac cctgcccct
agccaggaag agatgaccaa gaaccaggtg tccctgacct gtctggtcaa
gggcttctac ccctccgaca ttgccgtgga atgggagtcc aacggccagc
ccgagaacaa ctacaagacc acccccccctg tgctggacag cgacggctcc
ttcttcctgt actctcggct gaccgtggac aagtcccggt ggcaggaagg
caacgtcttc tcctgctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca
cccagaagtc cctgtccctg agcctgggca ag
```

β2M Humano (SEQ ID NO:95)

IQKTPQIQVYSRHPPENGKPNFLNCYVSQFHPPQIEIELLKNGKKIPNIEMSDLSFSKDWSFYILAHTEFTPTETDVYA
CRVKHVTLKEPKTVTWDRDM

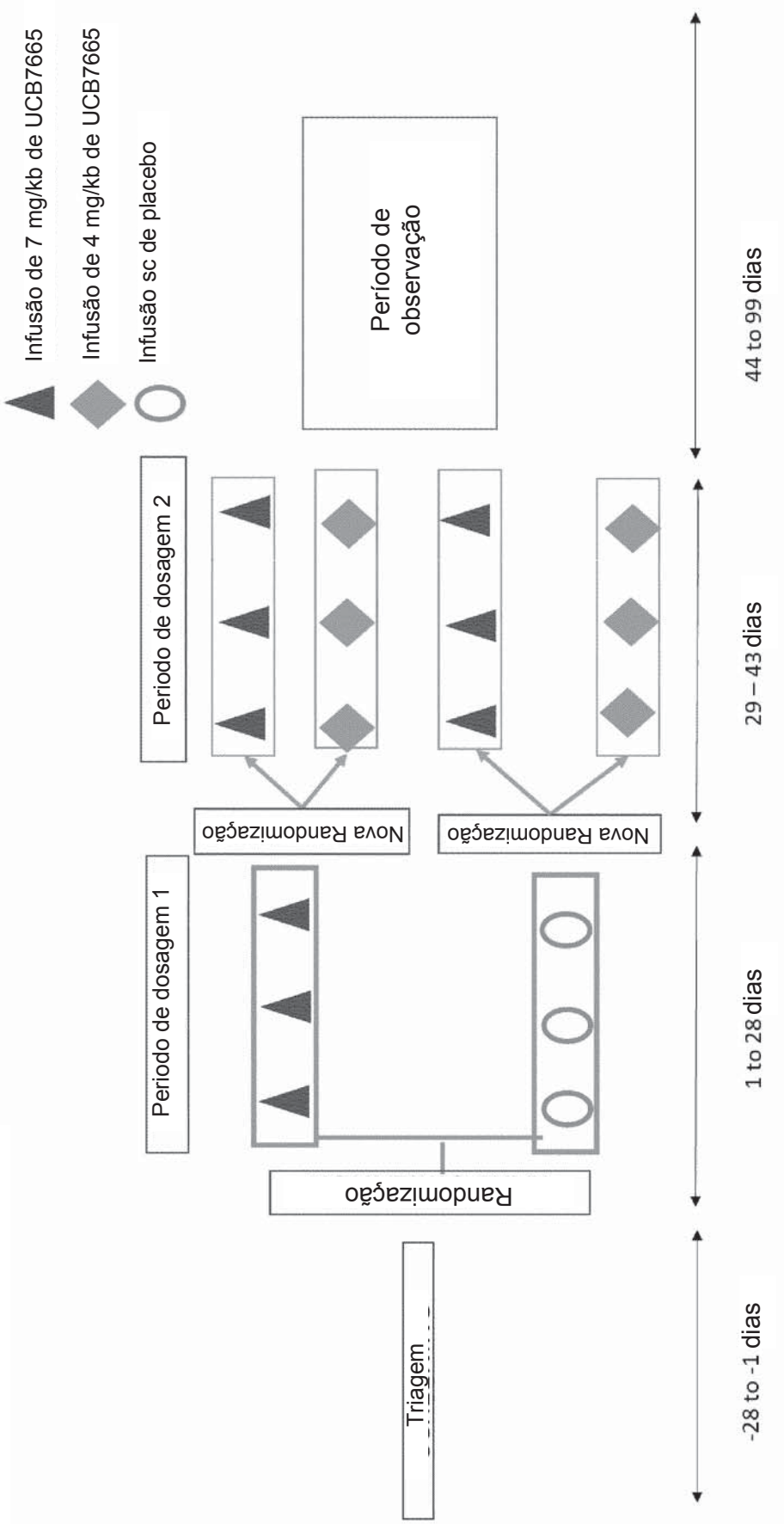
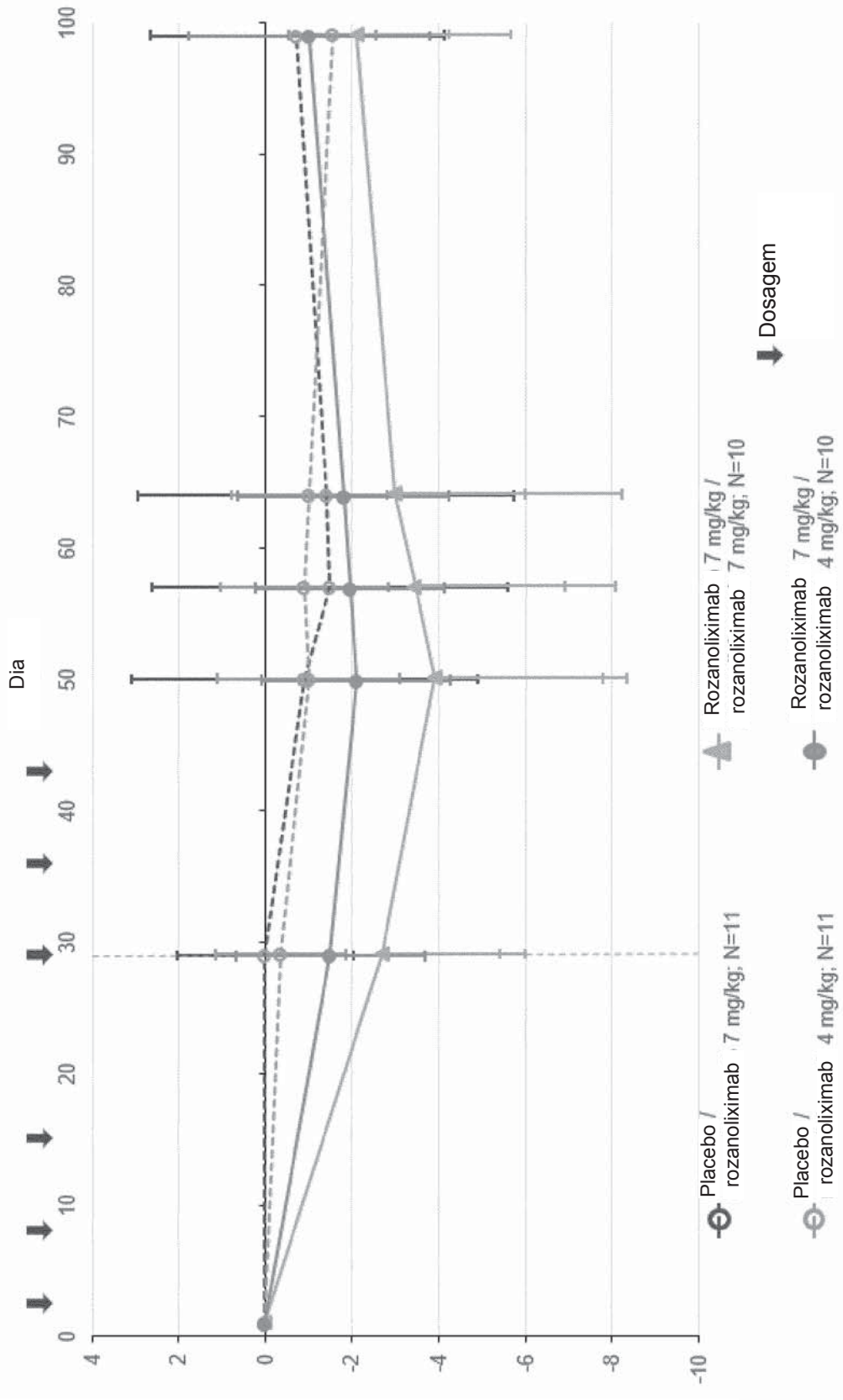


Figura 2 Projeto de estudo MG0002 (SubQ; UCB7665)

Figura 3


Mudança média (SD) a partir da linha de base em pontuação de MG-ADL
Dia
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
4
2
0
-2
-4
-6
-8
-10
Placebo / rozanoliximab 7 mg/kg; N=11
Rozanoliximab 7 mg/kg / rozanoliximab 7 mg/kg; N=10
Placebo / rozanoliximab 4 mg/kg; N=11
Rozanoliximab 7 mg/kg / rozanoliximab 4 mg/kg; N=10
Dosagem

Mudança média a partir da linha de base em pontuação de eficácia
2
0
-2
-4
-6
-8
-10
1
8
15
22
29
36
43
50
57
64
78
92
99
Dias
Dosagem
QMG
Composito de MG
MG-ADL
IgG
AChR Ab
Mudança média a partir da linha de base em IgG de soro e mudança mediana a partir da linha de base em anticorpo anti-AChR, %
15
0
-15
-30
-45
-60
-75

Figura 4

Figura 5

FORMA DE TESTE DE MIASTENIA GRAVE QUANTITATIVA

Nome do paciente: _____ Paciente#: _____ Data: _____

MR#: _____ DOB: _____ Sex: _____ Ht. (in): _____ Wt. (kg): _____

Avaliador: _____ Destreza manual: _____ Destreza de perna: _____ Horário do exame: _____

Medicação de Anticolinesterase : _____

Comentários: _____

FRAQUEZA DE ITENS DE TESTE	NENHUMA	BRANDA	MODERADA	SEVERA	PONTUAÇÃO
Grau	0	1	2	3	
Visão dupla (olhar lateral), seg	60	11-59	1-10	Espontânea	
Ptose (olhar para cima), seg.	60	11-59	1-10	Espontânea	
Músculos faciais	Fechamento de pálpebras normal	Completa, fraca com alguma resistência	Completa, sem resistência	Incompleta	
Deglutição de 118,3 ml (4 oz) de água (meio copo)	Normal	Tosse ou pigarro mínimo	Severo engasgamento com tosse ou regurgitação nasal	Não é possível engolir (teste não realizado)	
Fala seguindo contagem em voz alta de 1 a 50 (princípio de disartria)	Nada em #50	Disartria em #30-49	Disartria em #10-29	Disartria em #9	
Braço direito estendido (90º, sentad) seg.	240	90-239	10-89	0-9	
Braço esquerdo estendido (90º, sentad) seg.	240	90-239	10-89	0-9	
Capacidade vital forçada	≥80%	65-79%	50-64%	<50%	
Aperto de mão direita: homem (kg): mulher	≥45 ≥30	15-44 10-29	5-14 5-9	0-4 0-4	
Aperto de mão esquerda: homem (kg): mulher	≥35 ≥25	15-34 10-24	5-14 5-9	0-4 0-4	
Cabeça, levantada (45%, supino), seg.	120	30-119	1-29	0	
Perna direita estendida (45-50% supino), seg.	100	31-99	1-30	0	
Perna esquerda estendida (45-50% supino), seg.	100	31-99	1-30	0	

Figura 6 Pontuação de compósito de MG

Escala de compósito de MG

Ptose, facilidade de se voltar para cima (exame do médico)	>45 segundos =0	11-45 segundos = 1	1-10 segundos =2	Imediata = 3
Visão dupla ao olhar para o lado, esquerda ou direita (exame do médico)	>45 segundos =0	11-45 segundos = 1	1-10 segundos=3	Imediata = 4
Fechamento do olho (exame do médico)	Normal = 0	Fraqueza branda (pode ser forçado com esforço) = 0	Fraqueza moderada (pode ser aberto facilmente) =1	Fraqueza severa (Incapaz de manter olho fechado) = 2
Falar (histórico do paciente)	Normal = 0	Fala arrastada ou anasalada intermitente= 2	Fala arrastada ou anasalada constante, mas pode ser entendida= 4	Dificuldade de entender fala = 6
Chewing (histórico do paciente)	Normal = 0	Fadiga com alimento sólido= 2	Fadiga com alimento macio = 4	Tubo gástrico = 6
Engolir (histórico do paciente)	Normal = 0	Raro episódio de engasgamento ou problemas ao engolir= 2	Frequente problema ao engolir, por exemplo, necessitando de mudança de dieta= 5	Tubo gástrico = 6
Ofegar (pensa-se ser causado por MG)	Normal = 0	Dificuldade de respirar com esforço = 2	Dificuldade de respirar em repouso = 4	Dependência de ventilador= 9
Flexão ou extensão de pescoço (mais fraco) (exame do médico)	Normal = 0	Fraqueza branda = 1	Fraqueza moderada (isto é, -50% de fraqueza, ± 15%) = 3	Fraqueza severa= 4
Abdução de ombro (exame do médico)	Normal = 0	Fraqueza branda = 2	Fraqueza moderada (isto é, -50% de fraqueza, ± 15%) = 4	Fraqueza severa= 5
Flexão de quadril (exame do médico)	Normal = 0	Fraqueza branda = 2	Fraqueza moderada (isto é, -50% de fraqueza, ± 15%) = 4	Fraqueza severa= 5
Total				----------

Nota: Por favor, observe que “fraqueza moderada” para itens de pescoço e membro podem ser interpretados como fraqueza que se iguala a aproximadamente 50%±15% da força normal esperada. Qualquer fraqueza mais branda do que seria “branda” e qualquer fraqueza mais severa do que seria classificada como “severa”.

Figura 7 Pontuação de Vivência Diária (MG - ADL)

Grau	0			Pontuação
Falar	Normal	anasalada intermitente	anasalada, mas pode ser entendida	ificuldade de entender a fala
Mastigar	Normal	Fadiga com alimento sólido	Fadiga com alimento macio	Tubo gástrico
Engolir	Normal	Raro episódio de engasgamento ou problema ao engolir	Frequente problema em engolir, por exemplo, necessitando de mudança de dieta	Tubo gástrico
Respirar	Normal	Dificuldade de respirar com esforço	Dificuldade de respirar em repouso	Dependência de ventilador
Deficiência de capacidade de escovar os dentes ou pentear o cabelo	Nenhum	Esforço extra, mas sem períodos de repouso necessários	Períodos de repouso necessários	Não é possível realizar uma dessas funções
Deficiência de capacidade de levantar da cadeira	Nenhum	Branda, algumas vezes, usa os braços	Moderada, sempre usa os braços	Severa, necessita de assistência
Visão dupla	Nenhum	Ocorre, mas não diariamente	Diária, mas não constante	Constante
queda de pálpebra	Nenhum	Ocorre, mas não diariamente	Diária, mas não constante	Constante

Pontuação total .....

RESUMO

“MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE MIASTENIA GRAVE”

A revelação refere-se a um método de tratamento ou prevenção de Miastenia Grave (MG) em um humano em necessidade do mesmo, com uso de um anticorpo antiFcRn ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo. Em particular, o método fornece regimes de dosagem adequados para tal tratamento.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

Código de Controle

Campo 1



Campo 2



Outras Informações:

- Nome do Arquivo: Listagem de Sequências.txt
- Data de Geração do Código: 14/04/2021
- Hora de Geração do Código: 15:51:13
- Código de Controle:
  - Campo 1: B96BCC806F79A800
  - Campo 2: 2CA2F5FF47F6FF95