

(11) Número de Publicação: **PT 1871804 E**

(51) Classificação Internacional:

C07K 16/28 (2013.01) **G01N 33/68** (2013.01)

A61K 39/395 (2013.01) **C12P 21/06** (2013.01)

C07H 21/04 (2013.01) **C07K 17/00** (2013.01)

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

(22) Data de pedido: 2006.04.19	(73) Titular(es): CHEMOCENTRYX, INC.	
(30) Prioridade(s): 2005.04.21 US 674140 P	850 MAUDE AVENUE MOUNTAIN VIEW	US
(43) Data de publicação do pedido: 2008.01.02	CALIFORNIA 94043	
(45) Data e BPI da concessão: 2013.08.28	(72) Inventor(es):	US
209/2013	MAUREEN HOWARD	US
	THOMAS SCHALL	
	(74) Mandatário:	
	ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA	PT
	RUA DAS FLORES, Nº 74, 4º AND 1249-235 LISBOA	

(54) Epígrafe: **ANTICORPOS QUE LIGAM CCX-CKR2**

(57) Resumo:

PROPORCIONAM-SE ANTICORPOS QUE SE LIGAM A CCX-CKR2 E MÉTODOS PARA SUA UTILIZAÇÃO.

RESUMO

"Anticorpos que ligam CCX-CKR2"

Proporcionam-se anticorpos que se ligam a CCX-CKR2 e métodos para sua utilização.

DESCRIÇÃO**"Anticorpos que ligam CCX-CKR2"**

ANTECEDENTES DO INVENTO

As quimiocinas constituem uma família de citocinas pequenas que são produzidas na inflamação, entre outros processos, e regulam o recrutamento, activação e proliferação de leucócitos (Baggiolini, M. et al., *Adv. Immunol.* 55: 97-179 (1994); Springer, T. A., *Annu. Rev. Physiol.* 57: 827-872 (1995); e Schall, T. J. e K. B. Bacon, *Curr. Opin. Immunol.* 6: 865-873 (1994)). As quimiocinas são capazes de induzir quimiotaxia selectivamente dos elementos formados do sangue (diferentes dos eritrócitos), incluindo leucócitos tais como neutrófilos, monócitos, macrófagos, eosinófilos, basófilos, mastócitos e linfócitos, incluindo células T e células B. Além de estimularem quimiotaxia, podem ser induzidas outras alterações selectivamente pelas quimiocinas em células sensíveis, incluindo alterações na forma celular, aumento transitório da concentração intracelular de iões cálcio (Ca^{2+}) livres, exocitose de grânulos, regulação positiva de integrina, formação de lípidos bioactivos (e.g., leucotrienos), expressão de citocinas e explosão respiratória, associada a activação, crescimento e proliferação de leucócitos. Assim, as quimiocinas são agentes de desencadeamento precoce da resposta inflamatória, causando libertação de mediador inflamatório, quimiotaxia e extravasão para locais de infecção ou inflamação.

Duas subfamílias de quimiocinas, denominadas quimiocinas CXC e CC, distinguem-se pelo arranjo dos primeiros dois de quatro resíduos de cisteína conservados, que estão separados por um aminoácido (tal como nas quimiocinas CXC, SDF-1, IL-8, IP-10, MIG, PF4, ENA-78, GCP-2, $\text{GRO}\alpha$, $\text{GRO}\beta$, $\text{GRO}\gamma$, NAP-2, NAP-4, I-TAC) ou são resíduos adjacentes (tal como nas quimiocinas CC, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, MCP-1, MCP-2, MCP-3, I-309). A maioria das quimiocinas CXC atrai leucócitos neutrófilos. Por exemplo, as quimiocinas CXC interleucina 8 (IL-8), factor de plaquetas 4 (PF4) e péptido de activação de neutrófilos 2 (NAP-2) são quimio-actractores e activadores de neutrófilos potentes. As quimiocinas CXC denominadas MIG

(monocina induzida por interferão gama) e IP-10 (proteína de 10 kDa indutível por interferão γ) são particularmente activas na indução de quimiotaxia de linfócitos de sangue periférico activados. As quimiocinas CC são geralmente menos selectivas e podem atrair uma variedade de tipos de células de leucócitos, incluindo monócitos, eosinófilos, basófilos, linfócitos T, granulócitos e células assassinas naturais. As quimiocinas CC tais como as proteínas quimiotácticas de monócito humano 1-3 (MCP-1, MCP-2 e MCP-3), RANTES (T normais expressas e excretadas, reguladas por activação) e as proteínas inflamatórias de macrófago 1α e 1β (MIP- 1α e MIP- 1β) foram caracterizadas como quimioatractores e activadores de monócitos ou linfócitos, mas não parecem ser quimioatractores para neutrófilos.

As quimiocinas CC e CXC actuam através de receptores que pertencem a uma superfamília de sete receptores acoplados a proteína G transmembranar (Murphy, P. M., *Pharmacol Rev.* 52:145-176 (2000)). Esta família de receptores acoplados a proteína G compreende um grande grupo de proteínas membranares integrais, contendo sete regiões transmembranares. Os receptores podem ser acoplados a proteínas G, que são proteínas regulatórias heterotriméricas capazes de ligarem GTP e mediar transdução de sinal de receptores acoplados, por exemplo, pela produção de mediadores intracelulares. Adicionalmente, os receptores de quimiocina podem actuar independentemente de acoplamento a proteína G. Por exemplo, o receptor Duffy expresso predominantemente em eritrócitos é um receptor promíscuo de ligação de quimiocina que se pensa que actua como uma quimiocina, removendo quimiocinas do ambiente circulatório.

De um modo geral, as interacções de quimiocina e receptor de quimiocina tendem a ser promíscuas dado que uma quimiocina pode ligar muitos receptores de quimiocina e reciprocamente um único receptor de quimiocina pode interactuar com várias quimiocinas. Existem poucas excepções a esta regra; uma tal excepção é a interacção entre SDF-1 e CXCR4 (Bleul *et al.*, *J Exp Med*, 184(3): 1101-9 (1996); Oberlin *et al.*, *Nature*, 382(6594): 833-5 (1996)). Originalmente identificado como um factor de estimulação de crescimento de pré-células B (Nagasawa *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA*, 91(6): 2305-9

(1994)), SDF-1 foi o único ligando humano relatado para CXCR4. O gene SDF-1 codifica duas proteínas, denominadas SDF-1 α e SDF-1 β , por *splicing* alternativo. Estas duas proteínas são idênticas com a excepção dos quatro resíduos de aminoácidos presentes no terminal N de SDF-1 β e ausentes de SDF-1 α .

Existem muitos aspectos sobre a sinalização de receptor de quimiocina e selectividade para ligandos que não eram bem entendidos. Por exemplo, existem vários receptores órfãos para os quais não tinha sido anteriormente determinada qualquer função. Por exemplo, embora se supusesse anteriormente que RDC1 era um receptor para péptido intestinal vasoactivo (VIP), até recentemente foi considerado um receptor órfão porque não se tinha identificado o seu ligando endógeno. Consultar, e.g., Cook *et al.*, *FEBS Letts.* 300(2):149-152 (1992).

Recentemente determinou-se que RDC1, redenominado CCX-CKR2, se liga a ambas as quimiocinas SDF-1 e I-TAC. Consultar, e.g., PCT/US04/34807 (WO/2005/044792) e pedidos de patente U.S. N° 10/698 541 (US 2004/0170634 A1), 10/912 638 (US 2005/0074826 A1) e 11/050 345 (US 2005/0074826 A1).

SUMÁRIO SUCINTO DO INVENTO

O presente invento proporciona um anticorpo que se liga a CCX-CKR2, compreendendo: i) as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:12 e as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:14; ou ii) as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:16 e as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:18.

Em algumas concretizações, o anticorpo está ligado a um marcador detectável. Em algumas concretizações abrangidas pelo âmbito do invento, tal como especificado pelas reivindicações, o anticorpo está ligado a um radioisótopo ou um composto químico citotóxico.

Em algumas concretizações, o anticorpo é um anticorpo monoclonal. Em algumas concretizações, o anticorpo é um

fragmento de anticorpo. Em algumas concretizações, o anticorpo é um anticorpo humanizado.

Um anticorpo de acordo com o invento, tal como especificado pelas reivindicações, compreende as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:12 e as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:14. Em algumas concretizações, o anticorpo compreende SEQ ID NO:12 e/ou SEQ ID NO:14.

Um anticorpo de acordo com o invento, tal como especificado pelas reivindicações, compreende as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:16 e as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:18. Em algumas concretizações, o anticorpo compreende SEQ ID NO:16 e/ou SEQ ID NO:18.

O presente invento também proporciona métodos de detectar uma célula que expressa CCX-CKR2 numa amostra biológica. De acordo com o invento, os métodos compreendem pôr em contacto a amostra biológica com um anticorpo e detectar a presença do anticorpo, em que o anticorpo se liga a CCX-CKR2 e compreende i) as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:12 e as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:14 ou ii) as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:16 e as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO: 18.

Em algumas concretizações, o anticorpo está ligado a um marcador detectável.

O presente invento também proporciona métodos para identificar um modulador de CCX-CKR2. De acordo com o invento, o método compreende:

(a) combinar um agente de ensaio com (i) uma célula que expressa um polipéptido CCX-CKR2, em que a referida célula não é uma célula humana in vivo ou (ii) com um extracto de uma célula que expressa um polipéptido CCX-CKR2; e

(b) efectuar um ensaio para detectar se o agente de ensaio compete com um anticorpo competidor para ligação ao polipéptido CCX-CKR2, em que o anticorpo competidor se liga a CCX-CKR2 e compreende i) as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:12 e as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:14 ou ii) as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:16 e as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:18,

em que a competição entre o anticorpo competidor e o agente de ensaio para ligação a polipéptido CCX-CKR2 é uma indicação de que o agente de ensaio é um modulador de actividade de CCX-CKR2.

Em algumas concretizações, o anticorpo competidor compreende SEQ ID NO:12 e SEQ ID NO:14.

Em algumas concretizações, o anticorpo competidor compreende SEQ ID NO:16 e SEQ ID NO:18.

O presente invento também proporciona métodos para ensaiar a eficácia de um agente de ensaio que modula a actividade de CCX-CKR2. Tal é útil, por exemplo, quando se utilizam os anticorpos do invento como um fármaco de controlo numa análise de moléculas pequenas agonistas ou antagonistas de CCX-CKR2. De acordo com o invento, os métodos compreendem:

(a) administrar o reagente de ensaio a um primeiro animal não humano;

(b) administrar a um segundo animal não humano um anticorpo que se liga a CCX-CKR2, compreendendo i) as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:12 e as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:14 ou ii) as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:16 e as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:18; e

(c) comparar o efeito do reagente de ensaio no primeiro animal não humano com o efeito do anticorpo no segundo animal não humano.

Em algumas concretizações, o anticorpo compreende SEQ ID NO:12 e SEQ ID NO:14.

Em algumas concretizações, o anticorpo compreende SEQ ID NO:16 e SEQ ID NO:18.

Descrevem-se polipéptidos compreendendo SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16 ou SEQ ID NO:18 ou pelo menos uma CDR de SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16 ou SEQ ID NO:18. Os polipéptidos podem ser anticorpos.

O presente invento também proporciona um polinucleótido que codifica um anticorpo quimérico que se liga a CCX-CKR2, em que o referido anticorpo quimérico compreende i) as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:12 e as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:14; ou ii) as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:16 e as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:18. Descrevem-se polinucleótidos que codificam SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16 ou SEQ ID NO:18 ou pelo menos uma CDR de SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16 ou SEQ ID NO:18. Descrevem-se polinucleótidos compreendendo SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:15 ou SEQ ID NO:17.

O presente invento também proporciona um método de produzir um anticorpo de acordo com a reivindicação 1, em que o anticorpo é um anticorpo quimérico, em que o método compreende: ligar operacionalmente polinucleótidos que codificam as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat quer de SEQ ID NO:12 e SEQ ID NO:14, quer de SEQ ID NO:16 e SEQ ID NO:18 a polinucleótidos heterólogos que codificam pelo menos regiões de esqueleto de uma cadeia pesada ou leve de um anticorpo, para formar polinucleótidos de fusão que codificam as cadeias pesada e leve de um anticorpo; e expressar as cadeias pesada e leve dos polinucleótidos de fusão.

Descreve-se um método de produzir um anticorpo quimérico compreendendo ligar operacionalmente um polinucleótido que codifica pelo menos uma região determinante de complementaridade (CDR) de SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16 ou SEQ ID NO:18 a um polinucleótido heterólogo que codifica pelo menos a região de esqueleto de uma cadeia pesada ou leve de um anticorpo, para formar um polinucleótido de fusão que codifica uma cadeia pesada ou leve quimérica de um anticorpo; e

expressar a cadeia pesada ou leve quimérica a partir do polinucleótido de fusão.

DEFINIÇÕES

"RDC1" aqui denominado "CCX-CKR2" refere-se a um domínio sete-transmembranar presumivelmente de receptor acoplado a proteína G (GPCR). O ortólogo de cão de CCX-CKR2 foi identificado originalmente em 1991. Consultar, Libert *et al.* *Science* 244:569-572 (1989). A sequência de cão é descrita em Libert *et al.*, *Nuc. Acids Res.* 18(7):1917 (1990). A sequência de ratinho é descrita em, e.g., Heesen *et al.*, *Immunogenetics* **47**:364-370 (1998). A sequência humana é descrita em, e.g., Sreedharan *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:4986-4990 (1991), que erradamente descreveu a proteína como um receptor de péptido intestinal vasoactivo. "CCX-CKR2" inclui sequências que são variantes modificadas conservativamente de SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8 ou SEQ ID NO:10. Os fragmentos de CCX-CKR2 são fragmentos de pelo menos 5, e por vezes pelo menos 10, 20, 50, 100, 200, 300 ou até 300 aminoácidos contíguos de uma das sequências listadas anteriormente ou uma sua variante modificada conservativamente.

Um "sujeito" ou "indivíduo" refere-se a um animal, incluindo um humano, primata não humano, ratinho, rato, cão ou outro mamífero.

Um "agente quimioterapêutico" refere-se a um agente, que quando administrado a um indivíduo, é suficiente para causar inibição, retardar ou parar o crescimento de células

cancerosas ou é suficiente para produzir um efeito citotóxico em células cancerosas. Assim, a expressão "quantidade quimioterapeuticamente eficaz" descreve uma quantidade de um agente quimioterapêutico administrado a um indivíduo que é suficiente para causar inibição, retardar ou parar o crescimento de células cancerosas ou que é suficiente para produzir (directa ou indirectamente) um efeito citotóxico em células cancerosas. Uma "quantidade sub-terapêutica" refere-se a uma quantidade inferior à suficiente para causar inibição, retardamento ou paragem do crescimento de células cancerosas ou que é inferior à suficiente para produzir um efeito citotóxico em células cancerosas.

"Anticorpo" refere-se a um polipéptido compreendendo uma região de esqueleto de um gene de imunoglobulina ou seus fragmentos que se liga especificamente e reconhece um antigénio. Os genes de imunoglobulina reconhecidos incluem os genes de região constante kapa, lambda, alfa, gama, delta, épsilon e miu, bem como vários genes de regiões variáveis de imunoglobulina. As cadeias leves são classificadas como kapa ou lambda. As cadeias pesadas são classificadas como gama, miu, alfa, delta ou épsilon, que por seu lado definem as classes de imunoglobulina, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente.

As imunoglobulinas de ocorrência natural têm uma estrutura nuclear comum na qual duas cadeias leves idênticas (cerca de 24 kD) e duas cadeias pesadas idênticas (cerca de 55 ou 70 kD) formam um tetrâmero. A parte do terminal amino de cada cadeia é denominada região variável (V) e pode ser distinguida das regiões constantes (C) mais conservadas do restante de cada cadeia. No interior da região variável da cadeia leve encontra-se uma parte do terminal C denominada região J. No interior da região variável da cadeia pesada encontra-se uma região D além da região J. A maioria da variação de sequência de aminoácidos nas imunoglobulinas está confinada a três localizações separadas nas regiões V, conhecidas como regiões hipervariáveis ou regiões determinantes de complementaridade (CDR), que estão directamente envolvidas na ligação de antigénio. Iniciando no terminal amino, estas regiões denominam-se CDR1, CDR2 e CDR3, respectivamente. As CDR são mantidas na posição pelas regiões

de esqueleto (FR) mais conservadas. Iniciando no terminal amino, estas regiões denominam-se FR1, FR2, FR3 e FR4, respectivamente. As localizações das regiões CDR e FR e um sistema de numeração foram definidos por Kabat et al. (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, quinta edição, U.S. Department of Health and Human Services, U.S. Government Printing Office (1991)).

Um exemplo de unidade estrutural de imunoglobulina (anticorpo) compreende um tetrâmero. Cada tetrâmero é composto por dois pares de cadeias de polipéptido idênticas, em que cada par tem uma cadeia "leve" (cerca de 25 kDa) e uma cadeia "pesada" (cerca de 50-70 kDa). O terminal N de cada cadeia define uma região variável de cerca de 100 a 110 ou mais aminoácidos primariamente responsável pelo reconhecimento de antígeno. As expressões cadeia leve variável (V_L) e cadeia pesada variável (V_H) referem-se a estas cadeias leve e pesada, respectivamente.

Existem anticorpos, e.g., como imunoglobulinas intactas ou como vários fragmentos bem caracterizados produzidos por digestão com várias peptidases. Assim, por exemplo, a pepsina digere um anticorpo abaixo das ligações dissulfureto na região de dobra para produzir $F(ab)'_2$, um dímero de Fab que é uma cadeia leve ligada a V_H-C_{H1} através de uma ligação dissulfureto. O $F(ab)'_2$ pode ser reduzido em condições suaves para quebrar a ligação dissulfureto na região de dobra, convertendo assim o dímero $F(ab)'_2$ num monómero Fab'. O monómero Fab' é essencialmente Fab com parte da região de dobra (consultar FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY (Paul ed., 3ª ed. 1993)). Vários fragmentos de anticorpo são definidos em termos da digestão de um anticorpo intacto, mas um perito na especialidade considerará que tais fragmentos podem ser sintetizados de novo quimicamente ou por utilização de metodologia de ADN recombinante. Assim, a expressão anticorpo, tal como aqui utilizada, também inclui fragmentos de anticorpo produzidos pela modificação de anticorpos completos ou os que são sintetizados de novo utilizando metodologias de ADN recombinante (e.g., Fv em cadeia simples) ou os identificados utilizando bibliotecas de disposição de fagos (consultar, e.g., McCafferty et al., Nature 348:552-554 (1990)).

Para a preparação de anticorpos monoclonais ou policlonais pode utilizar-se qualquer técnica conhecida na especialidade (consultar, e.g., Kohler e Milstein, *Nature* 256:495-497 (1975); Kozbor et al., *Immunology Today* 4:72 (1983); Cole et al., p. 77-96 em *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy* (1985)). Os anticorpos "monoclonais" referem-se a anticorpos derivados de um único clone. Podem adaptar-se técnicas para a produção de anticorpos em cadeia simples (patente U.S. N° 4 946 778) para produzir anticorpos para polipéptidos deste invento. De igual modo, podem utilizar-se ratinhos transgénicos ou outros organismos, tais como outros mamíferos, para expressar anticorpos humanizados. Alternativamente pode utilizar-se tecnologia de disposição de fagos para identificar anticorpos e fragmentos Fab heteroméricos que se ligam especificamente a antígenos seleccionados (consultar, e.g., McCafferty et al., *Nature* 348:552-554 (1990); Marks et al., *Biotechnology* 10:779-783 (1992)).

Um "anticorpo quimérico" é uma molécula de anticorpo na qual (a) a região constante ou uma sua parte é alterada, substituída ou permutada de modo que o local de ligação de antígeno (região variável) esteja ligado a uma região constante de uma classe, função de efector ou espécie diferente ou alterada ou uma molécula completamente diferente que confere novas propriedades ao anticorpo quimérico, e.g., uma enzima, toxina, hormona, factor de crescimento, fármaco, etc.; ou (b) a região variável ou sua parte é alterada, substituída ou permutada por uma região variável com uma especificidade de antígeno diferente ou alterada.

Um anticorpo "humanizado" é um anticorpo que mantém a reactividade de um anticorpo não humano, sendo menos imunogénico em humanos. Tal pode ser conseguido, por exemplo, mantendo as regiões de CDR não humanas e substituindo as partes remanescentes do anticorpo pelas suas correspondentes humanas. Consultar, e.g., Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984); Morrison e Oi, *Adv. Immunol.*, 44:65-92 (1988); Verhoeyen et al., *Science*, 239:1534-1536 (1988); Padlan, *Molec. Immunol.*, 28:489-498 (1991); Padlan, *Molec. Immunol.*, 31(3):169-217 (1994).

A expressão "isolada", quando se aplica a uma proteína, significa que a proteína está essencialmente isenta de outros componentes celulares com os quais se encontra associada no estado natural. Preferentemente encontra-se num estado homogéneo, embora possa estar seca ou em solução aquosa. A pureza e homogeneidade são determinadas tipicamente utilizando técnicas de química analítica, tais como electroforese de gel de poliacrilamida ou cromatografia líquida de alta eficiência. Uma proteína que é a espécie predominante presente numa preparação está substancialmente purificada. A expressão "purificada" significa que uma proteína dá origem essencialmente a uma banda num gel electroforético. Em particular, significa que a proteína é pelo menos 85% pura, com maior preferência pelo menos 95% pura e com a maior preferência pelo menos 99% pura.

A frase "liga-se especificamente (ou selectivamente)" a um anticorpo ou "imunorreactivo especificamente (ou selectivamente) com", quando se refere a uma proteína ou péptido, refere-se a uma reacção de ligação que determina a presença da proteína numa população heterogénea de proteínas e outros produtos biológicos. Assim, em condições específicas de imuno-ensaio, os anticorpos especificados ligam-se a uma determinada proteína em pelo menos duas vezes a linha de base e não se ligam substancialmente numa quantidade significativa a outras proteínas presentes na amostra. Tipicamente, uma reacção específica ou selectiva será pelo menos duas vezes o sinal de linha de base ou ruído e mais tipicamente mais de 10 a 100 vezes a linha de base.

As expressões "peptidomimético" e "mimético" referem-se a um composto químico sintético que tem substancialmente as mesmas características estruturais e funcionais de um polipéptido de ocorrência natural ou não natural (e.g., um reagente que se liga a CCX-CKR2). Utilizam-se frequentemente análogos de péptido na indústria farmacêutica como fármacos não peptídicos com propriedades análogas à dos péptidos molde. Estes tipos de compostos não peptídicos são denominados "miméticos peptídicos" ou "peptidomiméticos" (Fauchere, J. *Adv. Drug Res.* 15:29 (1986); Veber e Freidinger *TINS* p. 392 (1985); e Evans et al. *J. Med. Chem.* 30:1229

(1987)). Podem utilizar-se miméticos peptídicos que são estruturalmente semelhantes a péptidos terapeuticamente úteis para produzir um efeito terapêutico ou profilático equivalente ou melhorado. Em geral, os peptidomiméticos são estruturalmente semelhantes a um polipéptido paradigma (i.e., um polipéptido que tem uma actividade biológica ou farmacológica), tal como a encontrada num polipéptido de interesse, mas que tem uma ou mais ligações peptídicas opcionalmente substituídas por uma ligação seleccionada do grupo que consiste de, e.g., $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$ (cis e trans), $-\text{COCH}_2-$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ e $-\text{CH}_2\text{SO}-$. O mimético pode ser completamente composto de análogos sintéticos, não naturais de aminoácidos ou é uma molécula quimérica parcialmente com aminoácidos naturais de péptidos e parcialmente de análogos não naturais de aminoácidos. Os miméticos podem também incorporar qualquer quantidade de substituições conservativas de aminoácidos naturais, desde que tais substituições também não alterem substancialmente a estrutura e/ou actividade do mimético. Por exemplo, uma composição mimética encontra-se no âmbito do invento caso seja capaz de efectuar pelo menos uma das actividades de ligação ou enzimáticas de um polipéptido de interesse.

Um "ligando" refere-se a um agente, e.g., um polipéptido ou outra molécula, capaz de se ligar a um receptor.

"Variantes modificadas conservativamente" aplica-se tanto a sequências de aminoácidos como a sequências de ácidos nucleicos. Relativamente a determinadas sequências de ácido nucleico, "variantes modificadas conservativamente" refere-se aos ácidos nucleicos que codificam sequências de aminoácidos idênticas ou essencialmente idênticas ou, quando o ácido nucleico não codifica uma sequência de aminoácidos, a essencialmente sequências idênticas. Devido à degenerescência do código genético, várias sequências de ácido nucleico codificarão qualquer determinada proteína. Por exemplo, os codões GCA, GCC, GCG e GCU todos codificam o aminoácido alanina. Assim, em todas as posições em que uma alanina é especificada por um codão, o codão pode ser alterado para qualquer dos codões correspondentes descritos sem alterar o polipéptido codificado. Tais variações de ácido nucleico são "variações silenciosas" que são uma espécie de variações

modificadas conservativamente. Qualquer sequência de ácido nucleico aqui que codifica um polipéptido também descreve todas as variações silenciosas possíveis do ácido nucleico. Um perito reconhecerá que cada codão num ácido nucleico (excepto AUG, que é usualmente o único codão para metionina, e TGG, que é usualmente o único codão para triptofano) pode ser modificado para obter uma molécula funcionalmente idêntica. Assim, cada variação silenciosa de um ácido nucleico que codifica um polipéptido está implícita em cada sequência descrita.

Relativamente a sequências de aminoácidos, um perito reconhecerá que substituições, deleções ou adições individuais a uma sequência de ácido nucleico, péptido, polipéptido ou proteína que altere, adicione ou delete um único aminoácido ou uma pequena percentagem de aminoácidos na sequência codificada é uma "variante modificada conservativamente" em que a alteração resulta na substituição de um aminoácido por um aminoácido quimicamente semelhante. As tabelas de substituições conservativas que proporcionam aminoácidos funcionalmente semelhantes são bem conhecidas na especialidade. Tais variantes modificadas conservativamente são além das variantes polimórficas, homólogos inter-espécies e alelos do invento e não os excluem.

Os seguintes oito grupos contêm aminoácidos que são substituições conservativas uns dos outros:

- 1) Alanina (A), glicina (G);
- 2) Ácido aspártico (D), Ácido glutâmico (E);
- 3) Asparagina (N), glutamina (Q);
- 4) Arginina (R), lisina (K);
- 5) Isoleucina (I), leucina (L), metionina (M), valina (V);
- 6) Fenilalanina (F), tirosina (Y), triptofano (W);
- 7) Serina (S), treonina (T); e
- 8) Cisteína (C), metionina (M)

(consultar, e.g., Creighton, *Proteins* (1984)).

A "percentagem de identidade de sequência" é determinada por comparação de duas sequências alinhadas optimamente ao

longo de uma janela de comparação, em que a parte da sequência de polinucleótido na janela de comparação pode compreender adições ou deleções (i.e., falhas) comparativamente à sequência de referência (que não compreende adições ou deleções) para alinhamento óptimo das duas sequências. A percentagem é calculada por determinação do número de posições nas quais ocorrem bases de ácido nucleico ou resíduos de aminoácidos idênticos em ambas as sequências, para obter o número de posições idênticas, dividindo o número de posições idênticas pelo número total de posições na janela de comparação e multiplicando o resultado por 100 para obter a percentagem de identidade de sequência.

As expressões "idêntico" ou percentagem de "identidade", no contexto de duas ou mais sequências de ácido nucleico ou polipéptido, referem-se a duas ou mais sequências ou subsequências que são a mesma ou que têm uma percentagem de resíduos de aminoácidos ou nucleótidos especificada que é a mesma (i.e., 60% de identidade, opcionalmente 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% ou 95% de identidade ao longo de uma região especificada, e.g., das sequências de polipéptido completas do invento ou dos domínios extracelulares dos polipéptidos do invento), quando comparadas e alinhadas para correspondência máxima ao longo de uma janela de comparação ou de uma determinada região, tal como medida utilizando um dos seguintes algoritmos de comparação de sequências ou por alinhamento manual e inspeção visual. Diz-se então que tais sequências são "substancialmente idênticas". Esta definição também se refere ao complementar de uma sequência de ensaio. Opcionalmente, a identidade existe ao longo de uma região que tem pelo menos cerca de 50 nucleótidos de comprimento, ou com mais preferência ao longo de uma região que tem 100 a 500 ou 1000 ou mais nucleótidos de comprimento. Alguns anticorpos no âmbito do presente invento, tal como definido pelas reivindicações, incluem polipéptidos que são substancialmente idênticos a SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16 e/ou SEQ ID NO:18.

Para comparação de sequências, tipicamente uma sequência é usada como sequência de referência com a qual se comparam as sequências de ensaio. Quando se utiliza um algoritmo de comparação de sequência, introduzem-se as sequências de

ensaio e de referência num computador, definem-se coordenadas de subsequência, caso necessário, e definem-se os parâmetros do programa de algoritmo de sequências. Podem usar-se os parâmetros por omissão do programa ou podem definir-se parâmetros alternativos. O algoritmo de comparação de sequências calcula então as percentagens de identidade de sequência para as sequências de ensaio relativamente às sequências de referência, com base nos parâmetros do programa.

Uma "janela de comparação", tal como aqui utilizada, inclui referência a um segmento de qualquer uma do número de posições contíguas seleccionadas do grupo que consiste, e.g., de uma sequência completa ou de 20 a 600, cerca de 50 a cerca de 200 ou cerca de 100 a cerca de 150 aminoácidos ou nucleótidos na qual uma sequência podem ser comparada a uma sequência de referência com o mesmo número de posições contíguas após alinhamento óptimo das duas sequências. Os métodos de alinhamento de sequências para comparação são bem conhecidos na especialidade. Pode efectuar-se alinhamento óptimo das sequências para comparação, e.g., pelo algoritmo de homologia local de Smith e Waterman (1970) *Adv. Appl. Math.* 2:482c, pelo algoritmo de alinhamento de homologia de Needleman e Wunsch (1970) *J. Mol. Biol.* 48:443, pela busca pelo método de similaridade de Pearson e Lipman (1988) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85:2444, por implementações computadorizadas destes algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA e TFASTA no Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), ou por alinhamento manual e inspecção visual (consultar, e.g., Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology* (suplemento de 1995)).

Um exemplo de um algoritmo que é adequado para determinar a percentagem de identidade de sequência e similaridade de sequência são os algoritmos BLAST e BLAST 2.0, que são descritos em Altschul et al. (1977) *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402 e Altschul et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410, respectivamente. O utilitário para efectuar análise BLAST está disponível ao público através de National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Este algoritmo envolve identificar primeiramente pares de

sequências de elevada pontuação (HSP) por identificação de palavras curtas de comprimento W na sequência de pergunta, que são idênticas ou que cumprem uma determinada pontuação limiar de valor positivo T quando alinhada com uma palavra do mesmo comprimento numa sequência de base de dados. T denomina-se limiar de pontuação de palavra de vizinhança (Altschul *et al.*, supra). Estes acertos de palavras vizinhas iniciais actuam como sementes para iniciar buscas para encontrar HSP mais compridas que as contêm. Os acertos de palavras são estendidos em ambos os sentidos ao longo de cada sequência desde que a pontuação de alinhamento cumulativa aumente. As pontuações cumulativas são calculadas utilizando, para sequências de nucleótidos, os parâmetros M (pontuação de recompensa para um par de resíduos idênticos; sempre > 0) e N (pontuação de penalização para resíduos diferentes; sempre < 0). Para sequências de aminoácidos, usa-se uma matriz de pontuação para calcular a pontuação cumulativa. A extensão dos acertos de palavra em cada sentido é parada quando: a pontuação de alinhamento cumulativa diminui para um valor inferior pela quantidade X ao valor máximo atingido; a pontuação cumulativa desce para zero ou inferior, devido à acumulação de um ou mais alinhamentos de resíduos com pontuação negativa; ou quando se atinge o final da sequência. Os parâmetros do algoritmo BLAST W , T e X determinam a sensibilidade e velocidade do alinhamento. O programa BLASTN (para sequências de nucleótidos) utiliza como valores por omissão um comprimento de palavra (W) de 11, uma expectativa (E) de 10, $M=5$, $N=-4$ e uma comparação de ambas as cadeias. Para sequências de aminoácidos, o programa BLASTP usa como valores por omissão um comprimento de palavra de 3 e uma expectativa (E) de 10 e a matriz de pontuação BLOSUM62 (consultar Henikoff e Henikoff (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915) alinhamentos (B) de 50, expectativa (E) de 10, $M=5$, $N=-4$ e uma comparação de ambas as cadeias.

O algoritmo BLAST também efectua uma análise estatística da similaridade entre duas sequências (consultar, e.g., Karlin e Altschul (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5787). Uma medida de similaridade proporcionada pelo algoritmo BLAST é a menor soma de probabilidades ($P(N)$), que proporciona uma indicação da probabilidade pela qual uma identificação de igualdade entre duas sequências de

nucleótidos ou de aminoácidos ocorreria por acaso. Por exemplo, considera-se que um ácido nucleico é semelhante a uma sequência de referência caso a menor soma de probabilidades numa comparação do ácido nucleico de ensaio com o ácido nucleico de referência seja inferior a cerca de 0,2, com maior preferência inferior a cerca de 0,01 e com a maior preferência inferior a cerca de 0,001.

Uma indicação que duas sequências de ácido nucleico ou polipéptidos são substancialmente idênticas é que o polipéptido codificado pelo primeiro ácido nucleico tem reactividade imunológica cruzada com os anticorpos desenvolvidos contra o polipéptido codificado pelo segundo ácido nucleico, tal como descrito seguidamente. Assim, um polipéptido é tipicamente substancialmente idêntico a um segundo polipéptido, por exemplo, quando os dois péptidos diferem apenas por substituições conservativas. Outra indicação que duas sequências de ácido nucleico são substancialmente idênticas é que as duas moléculas ou os seus complementares hibridem entre si em condições rigorosas, tal como descrito seguidamente. Ainda outra indicação que duas sequências de ácido nucleico são substancialmente idênticas é que podem ser utilizados os mesmos iniciadores para amplificar a sequência.

DESCRIÇÃO SUCINTA DOS ESQUEMAS

A figura 1 apresenta algumas das regiões determinantes de complementaridade (CDR) dos anticorpos do invento (SEQ ID NOS: 19-22).

DESCRIÇÃO DETALHADA DO INVENTO

I. Anticorpos do invento

O presente invento proporciona um anticorpo que se liga a CCX-CKR2, compreendendo: i) as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:12 e as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:14; ou ii) as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:16 e as regiões determinantes de complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:18. Descrevem-

se reagentes e métodos para tratamento, diagnóstico e prognóstico para doenças e distúrbios relacionados com CCX-CKR2 usando anticorpos contra CCX-CKR2. As doenças e distúrbios relacionados com CCX-CKR2 são exemplificados seguidamente e incluem cancro, doenças envolvendo angiogénese excessiva ou anómala e artrite, não se lhes limitando.

Em algumas concretizações abrangidas pelo âmbito do invento, tal como definido pelas reivindicações, os anticorpos são isolados. Em algumas concretizações do invento, os anticorpos reconhecem o mesmo epítopo que é ligado pelas CDR em SEQ ID NO:12 e SEQ ID NO:14. Em algumas concretizações do invento, os anticorpos reconhecem o mesmo epítopo que é ligado pelas CDR em SEQ ID NO:16 e SEQ ID NO:18. Os anticorpos compreendendo SEQ ID NO:12 e SEQ ID NO:14 ou SEQ ID NO:16 e SEQ ID NO:18 ligam-se a CCX-CKR2 e competem com as quimiocinas SDF-1 e I-TAC para ligação a CCX-CKR2. Descrevem-se ensaios de competição para ligação a CCX-CKR2 em, e.g., consultar, e.g., PCT/US04/34807 (WO/2005/044792) e publicações de patente U.S. N° US2004/0170634 e 2005/0074826.

Em algumas concretizações abrangidas pelo âmbito do invento, tal como especificado pelas reivindicações, os anticorpos ligam-se a CCX-CKR2 mas não se ligam a sangue periférico humano. Por exemplo, em algumas concretizações abrangidas pelo âmbito do invento, tal como especificado pelas reivindicações, os anticorpos do invento não se ligam a pelo menos um dos seguintes: basófilos, monócitos, células dendríticas plasmacitóides; células B ou células T CD4⁺.

Alguns anticorpos abrangidos pelo âmbito do presente invento, tal como especificado pelas reivindicações, compreendem SEQ ID NO:12 ou SEQ ID NO:14 ou SEQ ID NO:16 ou SEQ ID NO:18. Em algumas concretizações, os anticorpos do presente invento, tal como especificado pelas reivindicações, compreendem SEQ ID NO:12 e SEQ ID NO:14 ou SEQ ID NO:16 e SEQ ID NO:18. Os anticorpos de acordo com o presente invento, tal como definido pelas reivindicações, compreendem as CDR de Kabat de SEQ ID NO:12 e as CDR de Kabat de SEQ ID NO:14, ou as CDR de Kabat de SEQ ID NO:16 e as CDR de Kabat de SEQ ID NO:18.

As localizações das CDR e das regiões FR e um sistema de numeração foram descritos anteriormente. (Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, quinta edição, U.S. Department of Health and Human Services, U.S. Government Printing Office (1991)). As CDR podem ser identificadas geralmente utilizando o algoritmo NCBI IgBLAST. Em alguns casos, as CDR da cadeia pesada ocorrem nas posições de aminoácidos 31-35 (CDR1), 50-65 (CDR2) e 96-102 (CDR3). Em alguns casos, as CDR de cadeia leve ocorrem nas posições de aminoácidos 24-34 (CDR1), 50-56 (CDR2) e 89-97 (CDR3). As CDR1 e CDR2 de Kabat para SEQ ID N° 12, 14, 16 e 18 são tal como apresentadas na figura 1.

A capacidade de um determinado anticorpo reconhecer o mesmo epítipo que outro anticorpo é tipicamente determinada pela capacidade de um anticorpo inibir competitivamente a ligação do segundo anticorpo ao antígeno, e.g., a CCX-CKR2 ou um seu fragmento ou fusão. Pode utilizar-se qualquer de vários ensaios de ligação competitiva para medir a competição entre dois anticorpos para o mesmo antígeno. Um exemplo de ensaio é um ensaio Biacore. Sucintamente, nestes ensaios podem mapear-se os locais de ligação em termos estruturais por ensaio da capacidade dos agentes que interactivam, e.g. anticorpos diferentes, inibirem a ligação de outro. A injeção de duas amostras de anticorpo consecutivas em concentração suficiente pode identificar pares de anticorpos em competição para o mesmo epítipo de ligação. As amostras de anticorpo devem ter o potencial de atingir uma saturação significativa com cada injeção. A ligação resultante da segunda injeção de anticorpo é indicativa para análise de epítipo de ligação. Podem utilizar-se dois níveis de resposta para descrever as fronteiras entre competição perfeita relativamente a ligação não competitiva devida a epítopos distintos. A quantidade relativa de resposta de ligação da injeção do segundo anticorpo relativamente à ligação de epítopos de ligação idênticos e distintos determina o grau de sobreposição de epítipo. Os anticorpos podem reconhecer epítopos lineares ou conformacionais, portanto os anticorpos podem ser competitivos embora reconheçam epítopos diferentes e distais.

Podem utilizar-se no presente invento outros imuno-ensaios convencionais conhecidos na especialidade. Por exemplo, podem diferenciar-se anticorpos pelo epítopo ao qual se ligam utilizando um ensaio ELISA em sanduíche. Tal é efectuado usando um anticorpo de captura para revestir a superfície de um poço. Adiciona-se então uma concentração de subsaturação de antigénio marcado à superfície de captura. Esta proteína ligar-se-á ao anticorpo através de uma interacção específica anticorpo:epítopo. Após lavagem, adiciona-se ao ELISA um segundo anticorpo, que tem uma parte detectável (e.g., HRP, com o anticorpo marcado sendo definido como o anticorpo de detecção) ligado covalentemente. Caso o anticorpo reconheça o mesmo epítopo que o anticorpo de captura será incapaz de se ligar à proteína alvo, dado que esse epítopo específico já não estará disponível para ligação. Contudo, caso este segundo anticorpo reconheça um epítopo diferente na proteína alvo, este estará disponível para ligação e esta ligação pode ser detectada quantificando o nível de actividade (e portanto o anticorpo ligado) utilizando um substrato relevante. A linha de base é definida utilizando um único anticorpo, tanto como anticorpo de captura como de detecção, enquanto o sinal máximo pode ser estabelecido por captura com um anticorpo específico de antigénio e detecção com um anticorpo para o marcador no antigénio. Pela utilização de sinais de linha de base e máximo como referências, podem avaliar-se os anticorpos em pares para determinar especificidade de epítopo.

Considera-se que um primeiro anticorpo inibe competitivamente a ligação de um segundo anticorpo, caso a ligação do segundo anticorpo ao antigénio seja reduzida em pelo menos 30%, usualmente pelo menos cerca de 40%, 50%, 60% ou 75% e frequentemente pelo menos cerca de 90%, na presença do primeiro anticorpo, utilizando qualquer dos ensaios descritos anteriormente.

Os métodos de preparar anticorpos policlonais são conhecidos dos peritos na especialidade. Os anticorpos policlonais podem ser desenvolvidos num mamífero, e.g., através de uma ou mais injecções de um agente de imunização e, caso se pretenda, um adjuvante. Tipicamente, o agente de imunização e/ou adjuvante serão injectados num mamífero por

injecções subcutâneas ou intraperitoniais múltiplas. O agente de imunização pode incluir uma proteína codificada por um ácido nucleico ou seu fragmento ou uma sua proteína de fusão. Pode ser útil conjugar o agente de imunização com uma proteína que se sabe ser imunogénica no mamífero a ser imunizado. Os exemplos de tais proteínas imunogénicas incluem hemocianina de lapa gigante, albumina de soro, tiroglobulina bovina e inibidor de tripsina de soja, não se lhes limitando. Os exemplos de adjuvantes que podem ser utilizados incluem adjuvante completo de Freund e adjuvante MPL-TDM (monofosforil-lípido A, dicorinomicolato de tre-halose sintético). O protocolo de imunização pode ser seleccionado por um perito na especialidade sem experiências desnecessárias.

Alternativamente, os anticorpos podem ser anticorpos monoclonais. Os anticorpos monoclonais podem ser preparados utilizando métodos de hibridoma, tais como os descritos por Kohler e Milstein, *Nature* 256:495 (1975). Num método de hibridoma tipicamente imuniza-se um ratinho, *hamster* ou outro animal adequado com um agente de imunização para estimular linfócitos que produzem ou são capazes de produzir anticorpos que se ligarão especificamente ao agente de imunização. Alternativamente, os linfócitos podem ser imunizados in vitro. O agente de imunização incluirá tipicamente um polipéptido CCX-CKR2 ou um seu fragmento ou fusão. Em geral, usam-se linfócitos de sangue periférico ("PBL"), caso se pretendam células de origem humana, ou células baço ou células de gânglios linfáticos caso se pretendam fontes de mamíferos não humanos. Os linfócitos são então fundidos com uma linha celular imortalizada usando um agente de fusão adequado, tal como polietilenoglicol, para formar uma célula de hibridoma (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, p. 59-103 (1986)). As linhas celulares imortalizadas são usualmente células de mamífero transformadas, em particular células de mieloma de origem de roedor, bovina e humana. Usualmente usam-se linhas celulares de mieloma de rato ou ratinho. As células de hibridoma podem ser cultivadas num meio de cultura adequado que contém uma ou mais substâncias que inibem o crescimento ou sobrevivência das células imortalizadas não fundidas. Por exemplo, caso as células parentais não tenham a enzima hipoxantina guanina

fosforibosil transferase (HGPRT ou HPRT), o meio de cultura para os hibridomas incluirá tipicamente hipoxantina, aminopterina e timidina ("meio HAT"), substâncias essas que evitam o crescimento de células deficientes em HGPRT.

Em algumas concretizações do invento tal como especificado pelas reivindicações, os anticorpos são anticorpos quiméricos ou humanizados. Tal como salientado anteriormente, as formas humanizadas de anticorpos são imunoglobulinas quiméricas nas quais resíduos de uma região determinante de complementaridade (CDR) de anticorpo humano são substituídos por resíduos de uma CDR de uma espécie não humana, tal como ratinho, rato ou coelho com a especificidade, afinidade e capacidade pretendidas. Por exemplo, as CDR de SEQ ID NO:12 e SEQ ID NO:14, ou SEQ ID NO:16 e SEQ ID NO:18, podem ser inseridas no esqueleto de um anticorpo humano.

Os anticorpos humanos podem ser produzidos utilizando várias técnicas conhecidas na especialidade, incluindo bibliotecas de disposição de fagos (Hoogenboom e Winter, *J. Mol. Biol.* 227:381 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222:581 (1991)). Estão também disponíveis as técnicas de Cole et al. e Boerner et al. para a preparação de anticorpos monoclonais humanos (Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, p. 77 (1985) e Boerner et al., *J. Immunol.* 147(1):86-95 (1991)). Similarmente, podem preparar-se anticorpos humanos por introdução de locais de imunoglobulina humana em animais transgênicos, e.g., ratinhos nos quais os genes de imunoglobulina endógena foram parcial ou completamente inativados. Após provocação, verifica-se produção de anticorpo humano, que é muito semelhante em todos os aspectos à verificada em humanos, incluindo rearranjo, montagem de gene e reportório de anticorpo. Esta abordagem foi descrita, e.g., em patentes U.S. N° 5 545 807; 5 545 806; 5 569 825; 5 625 126; 5 633 425; 5 661 016 e nas seguintes publicações científicas: Marks et al., *Bio/Technology* 10:779-783 (1992); Lonberg et al., *Nature* 368:856-859 (1994); Mornson, *Nature* 368:812-13 (1994); Fishwild et al., *Nature Biotechnology* 14:845-51 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnology* 14:826 (1996); Lonberg e Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13:65-93 (1995).

Em algumas concretizações abrangidas pelo âmbito das reivindicações, os anticorpos do invento são Fv em cadeia simples (scFv). As regiões V_H e V_L (e.g., SEQ ID NO:12 e SEQ ID NO:14, ou SEQ ID NO:16 e SEQ ID NO:18) de um anticorpo scFv compreendem uma cadeia única que se encontra enrolada para criar um local de ligação de antigénio similar ao encontrado em anticorpos com duas cadeias. Uma vez enrolada, as interacções não covalentes estabilizam o anticorpo em cadeia simples. Embora as regiões V_H e V_L de algumas concretizações de anticorpo possam ser ligadas conjuntamente directamente, um perito na especialidade considerará que as regiões podem ser separadas por um ligante peptídico que consiste de um ou mais aminoácidos. Os ligantes peptídicos e a sua utilização são bem conhecidos na especialidade. Consultar, e.g., Huston et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 8:5879 (1988); Bird et al., *Science* 242:4236 (1988); Glockshuber et al., *Biochemistry* 29:1362 (1990); patente U.S. Nº 4 946 778, patente U.S. Nº 5 132 405 e Stemmer et al., *Biotechniques* 14:256-265 (1993). Em geral, o ligante peptídico não terá qualquer actividade biológica específica excepto ligar as regiões ou conservar uma distância mínima ou outra relação espacial entre V_H e V_L . No entanto, os aminoácidos constituintes do ligante peptídico podem ser seleccionados para influenciar alguma propriedade da molécula, tal como enrolamento, carga global ou hidrofobicidade. Os anticorpos Fv em cadeia simples (scFv) incluem opcionalmente um ligante peptídico de não mais do que 50 aminoácidos, em geral não mais do que 40 aminoácidos, de preferência não mais do que 30 aminoácidos e com maior preferência não mais do que 20 aminoácidos de comprimento. Em algumas concretizações abrangidas pelo âmbito do invento, tal como definido pelas reivindicações, o ligante peptídico é um concatâmero da sequência Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:23), de preferência 2, 3, 4, 5 ou 6 tais sequências. No entanto, deve considerar-se que se podem efectuar algumas substituições de aminoácidos no interior do ligante. Por exemplo, pode substituir-se uma glicina por uma valina.

Foram descritos métodos para preparar anticorpos scFv. Consultar, Huse et al., *Science* 246:1275-1281 (1989); Ward et al., *Nature* 341:544-546 (1989); e Vaughan et al., *Nature*

Biotech. 14:309-314 (1996). Sucintamente isola-se ARNm de células B de um animal imunizado e prepara-se ADNc. Amplifica-se o ADNc usando iniciadores específicos para as regiões variáveis de cadeias leves e pesadas de imunoglobulinas. Purificam-se os produtos de PCR e juntam-se as sequências de ácido nucleico. Caso se pretenda um ligante peptídico, inserem-se sequências de ácido nucleico que codificam o péptido entre as sequências de ácido nucleico de cadeia pesada e leve. O ácido nucleico que codifica o scFv é inserido num vector e expresso na célula hospedeira adequada. Tipicamente encontram-se scFv que se ligam especificamente ao antígeno pretendido por ciclos de selecção de uma biblioteca de disposição de fagos. Podem efectuar-se ciclos de selecção por qualquer um de vários métodos. Pode efectuar-se ciclos de selecção convenientemente usando células que expressam o antígeno pretendido na sua superfície ou usando uma superfície sólida revestida com o antígeno pretendido. Convenientemente, a superfície pode ser uma pérola magnética. O fago não ligado é removido da superfície sólida por lavagem e elui-se o fago ligado.

A busca com sucesso do anticorpo com a maior afinidade é regulada pela eficácia do processo de selecção e depende do número de clones que podem ser rastreados e do rigor com que tal é efectuado. Tipicamente, um rigor mais elevado corresponde a um ciclo de selecção mais selectivo. No entanto, caso as condições sejam demasiado rigorosas, o fago não se ligará. Após um ciclo de selecção, expande-se em *E. coli* o fago que se liga a placas revestidas com CCX-CKR2 ou a células que expressam CCX-CKR2 na sua superfície e sujeita-se a outro ciclo de selecção. Desta forma, ocorre um enriquecimento de várias vezes em 3 ciclos de selecção. Assim, mesmo quando o enriquecimento em cada ciclo é baixo, os ciclos de selecção múltiplos levarão ao isolamento de um fago raro e do material genético nele contido que codifica o scFv com a maior afinidade ou que é expresso de melhor forma no fago.

Independentemente do método de ciclos de selecção seleccionado, a ligação física entre o genótipo e o fenótipo proporcionada pela disposição de fagos possibilita o ensaio

de todos os membros de uma biblioteca de ADNc para ligação a antigénio, mesmo com bibliotecas grandes de clones.

Numa concretização abrangida pelo âmbito do invento, tal como definido pelas reivindicações, os anticorpos são anticorpos biespecíficos. Os anticorpos biespecíficos são anticorpos monoclonais, incluindo humanos ou humanizados, não se lhes limitando, que têm especificidades de ligação para pelo menos dois antigénios diferentes ou que têm especificidades de ligação para dois epítomos no mesmo antigénio. Numa concretização abrangida pelo âmbito do invento, tal como definido pelas reivindicações, uma das especificidades de ligação é para uma proteína CCK-CKR2, a outra é para outro antigénio de cancro diferente. Alternativamente, a tecnologia do tipo tetrâmero pode criar reagentes multivalentes.

Em algumas concretizações abrangidas pelo âmbito do invento, tal como definido pelas reivindicações, o anticorpo é conjugado a uma parte efectora. A parte efectora pode ser qualquer de várias moléculas, incluindo partes de marcador detectável, tais como marcadores radioactivos ou marcadores fluorescentes, ou pode ser uma parte terapêutica.

Noutras concretizações abrangidas pelo âmbito do invento, tal como definido pelas reivindicações, a parte terapêutica é um agente citotóxico. A direcção do agente citotóxico para alvos de tecido ou células de cancro resulta numa diminuição do número de células afectadas, reduzindo assim os sintomas associados ao cancro. Os agentes citotóxicos são numerosos e variados e incluem fármacos citotóxicos ou toxinas ou fragmentos activos de tais toxinas, não se lhes limitando. As toxinas adequadas e seus fragmentos correspondentes incluem cadeia A de difteria, cadeia A de exotoxina, cadeia A de ricina, cadeia A de abrina, curcina, crotina, fenomicina, enomicina, auristatina e semelhantes. Os agentes citotóxicos também incluem radioquímicos preparados por conjugação de radioisótopos a anticorpos do invento.

II. Imuno-ensaios

Os anticorpos do invento podem ser usados para detectar CCX-CKR2 ou células que expressam CCX-CKR2 usando qualquer de vários ensaios de ligação imunológica bem reconhecidos (consultar, e.g., patentes U.S. 4 366 241; 4 376 110; 4 517 288; e 4 837 168). Para uma revisão de imuno-ensaio gerais consultar também *Methods in Cell Biology*, Vol. 37, Asai, ed. Academic Press, Inc. New York (1993); *Basic and Clinical Immunology* 7ª edição, Stites e Terr, ed. (1991).

Assim, o presente invento proporciona, tal como especificado pelas reivindicações, métodos de detectar células que expressam CCX-CKR2. Num método, efectua-se uma biópsia no sujeito e ensaia-se o tecido recolhido *in vitro*. O tecido ou células de tecido são então postos em contacto com um anticorpo anti-CCX-CKR2 do invento. Quaisquer complexos imunitários que resultem indicam a presença de uma proteína CCX-CKR2 na amostra de biópsia. Para facilitar tal detecção, o anticorpo pode ser marcado radioquimicamente ou acoplado a uma molécula efectora que é um marcador detectável, tal como um marcador fluorescente. As células podem ser detectadas *in vivo* usando sistemas de imagem. Seguidamente determina-se a localização do marcador. Pode usar-se um método convencional para visualizar a imagem de diagnóstico. Por exemplo, podem usar-se isótopos paramagnéticos para ressonância magnética de imagem. A internalização do anticorpo pode ser importante para aumentar a vida no interior do organismo além da proporcionada pela ligação extracelular, que será susceptível a depuração pelo ambiente enzimático extracelular acoplada com a depuração circulatória.

As proteínas CCX-CKR2 também podem ser detectadas usando métodos de imuno-ensaio padrão e os anticorpos do invento. Os métodos incluem, por exemplo, radio-imuno-ensaio, imuno-ensaios em sanduíche (incluindo ELISA), ensaio de imunofluorescência, transferência "Western", cromatografia de afinidade (ligando de afinidade ligado a uma fase sólida) e detecção *in situ* com anticorpos marcados. Também se pode utilizar um agente de detecção secundário, e.g., anti-FITC de ratinho de cabra. Pode encontrar-se uma revisão geral da

tecnologia aplicável em Harlow e Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* (1988).

O presente invento proporciona, tal como especificado pelas reivindicações, métodos de detectar uma célula de cancro, incluindo métodos de proporcionar um prognóstico ou diagnóstico de cancro. CCX-CKR2 é expresso em praticamente todas as células de cancro ensaiadas até à data, enquanto a expressão de CCX-CKR2 em células normais (não cancerosas) parece estar limitada ao rim e algumas células cerebrais, bem como em determinados estágios de desenvolvimento do fígado fetal. Consultar, e.g., PCT/US04/34807 (WO/2005/044792) e pedidos de patente U.S. Nº 10/698 541 (US 2004/0170634 A1) e 10/912 638 (US 2005/0074826 A1). Assim, a expressão de CCX-CKR2 numa célula e especificamente numa célula não fetal e/ou uma célula que não seja do rim ou do cérebro indica a presença provável de uma célula de cancro. A presença de CCX-CKR2 no endotélio vascular de um tecido pode também indicar a presença de um cancro. Em alguns casos, confirma-se a presença de células de cancro em amostras contendo células que expressam CCX-CKR2 usando outros métodos conhecidos na especialidade.

Descrevem-se métodos para seleccionar uma via de tratamento de um sujeito com cancro ou que se suspeita ter cancro. Os métodos incluem obter uma amostra biológica do sujeito, pôr em contacto a amostra com anticorpos ou seus fragmentos de ligação de antigénio que se ligam especificamente a CCX-CKR2, detectar a presença ou ausência de ligação de anticorpo e seleccionar uma via de tratamento adequada ao cancro do sujeito. Em alguns casos, o tratamento é administração de anticorpos CCX-CKR2 do invento ao sujeito.

Descrevem-se métodos de diagnosticar doenças humanas incluindo cancro, não se lhe limitando, e.g., carcinomas, gliomas, mesoteliomas, melanomas, linfomas, leucemias, adenocarcinomas, cancro da mama, cancro do ovário, cancro cervical, glioblastoma, leucemia, linfoma, cancro da próstata e linfoma de Burkitt, cancro da cabeça e pescoço, cancro do cólon, cancro colorrectal, cancro do pulmão de não-pequenas células, cancro do pulmão de pequenas células, cancro do esófago, cancro do estômago, cancro pancreático, cancro

hepatobiliar, cancro da vesícula biliar, cancro do intestino delgado, cancro rectal, cancro do rim, cancro da bexiga, cancro da próstata, cancro do pénis, cancro da uretra, cancro dos testículos, cancro cervical, cancro vaginal, cancro uterino, cancro dos ovários, cancro da tiróide, cancro da paratiróide, cancro da glândula supra-renal, cancro endócrino pancreático, cancro carcinóide, cancro dos ossos, cancro da pele, retinoblastomas, linfoma de Hodgkin, linfoma não Hodgkin (consultar, CANCER:PRINCIPLES AND PRACTICE (DeVita, V.T. et al. ed 1997) para cancros adicionais); bem como disfunção cerebral e neuronal, tal como doença de Alzheimer e esclerose múltipla; disfunção renal; artrite reumatóide; rejeição de homotransplante cardíaco; aterosclerose; asma; glomerulonefrite; dermatite de contacto; doença inflamatória do intestino; colite; psoríase; lesão de reperfusão; bem como outros distúrbios e doenças aqui descritas. Em algumas concretizações, o sujeito não tem sarcoma de Kaposi, doença de Castleman multicêntrica ou linfoma de efusão primário associado a SIDA.

III. Moduladores de CCX-CKR2

A. Métodos de identificar moduladores de receptores de quimiocina

Podem utilizar-se vários protocolos de rastreio diferentes para identificar agentes que modulam o nível de actividade ou função de CCX-CKR2 em células, nomeadamente em células mamíferas e especialmente em células humanas. Em termos gerais, os métodos de rastreio envolvem o rastreio de vários agentes para identificar um agente que interaja com CCX-CKR2 (ou um seu domínio extracelular), por exemplo, por ligação a CCX-CKR2 e evitar que os anticorpos do invento se liguem a CCX-CKR2 ou activem CCX-CKR2. Em algumas concretizações, um agente liga CCX-CKR2 com pelo menos cerca de 1,5, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 50, 100, 300, 500 ou 1000 vezes a afinidade do agente para outra proteína.

1. Ensaaios de ligação de receptor de quimiocina

De acordo com um método do invento, identificam-se moduladores CCX-CKR2 por rastreio de moléculas que competem

com o anticorpo do invento para ligação a um polipéptido CCX-CKR2. Os peritos na especialidade reconhecerão que existem várias formas de efectuar análises de competição. Em algumas concretizações abrangidas pelo âmbito do método do invento, pré-incubam-se amostras com CCX-CKR2 com um anticorpo do invento marcado e seguidamente põem-se em contacto com uma molécula competidora potencial. A alteração (e.g., uma diminuição) da quantidade de anticorpo ligado a CCX-CKR2 na presença de um composto de ensaio indica que o composto de ensaio é um modulador CCX-CKR2 potencial.

Podem efectuar-se rastreios preliminares por rastreio de agentes capazes de ligar CCX-CKR2, dado que pelo menos alguns dos agentes assim identificados são provavelmente moduladores de receptores de quimiocinas. Os ensaios de ligação envolvem geralmente por em contacto CCX-CKR2 com um ou mais agentes de ensaio e deixando tempo suficiente para que a proteína e os agentes de ensaio formem um complexo de ligação. Quaisquer complexos de ligação formados podem detectar-se usando qualquer de entre várias técnicas analíticas estabelecidas. Os ensaios de ligação de proteína incluem ensaios de ligação imuno-histoquímicos, citometria de fluxo, ligação de radioligando, ligação de ligando marcado com európio, ligação de ligando marcado com biotina ou outros ensaios que mantêm a conformação de CCX-CKR2, não se lhes limitando. O receptor de quimiocina utilizado em tais ensaios pode ser expresso naturalmente, clonado ou sintetizado. Podem usar-se ensaios de ligação para identificar agonistas ou antagonistas. Por exemplo, pondo em contacto CCX-CKR2 com um agonista potencial e medindo actividade de CCX-CKR2, é possível identificar as moléculas que estimulam actividade CCX-CKR2.

2. Células e reagentes

Podem efectuar-se os métodos de rastreio do invento como ensaios *in vitro* ou baseados em células. Efectuam-se os ensaios *in vitro* por exemplo, usando fracções membranares ou células inteiras compreendendo CCX-CKR2. Podem efectuar-se ensaios baseados em células em quaisquer células nas quais se expressa CCX-CKR2.

Os ensaios baseados em células envolvem células completas ou fracções de células contendo CCX-CKR2 para rastrear ligação de agente ou modulação de actividade de CCX-CKR2 pelo agente. Os exemplos dos tipos de células que podem ser usados de acordo com os métodos do invento incluem, e.g., quaisquer células mamíferas incluindo leucócitos tais como neutrófilos, monócitos, macrófagos, eosinófilos, basófilos, mastócitos e linfócitos tal como células T e células B, leucemias, linfomas de Burkitt, células de tumor, células endoteliais, pericitos, fibroblastos, células cardíacas, células musculares, células de tumor de mama, carcinomas de cancro de ovário, carcinomas cervicais, glioblastomas, células de fígado, células de rim e células neuronais, assim como células fúngicas incluindo levedura. As células podem ser células primárias ou células de tumor ou outros tipos de linhas celulares imortais. Claro que CCX-CKR2 pode ser expresso em células que não expressam uma versão endógena de CCX-CKR2.

Nalguns casos, podem usar-se fragmentos de CCX-CKR2, assim como fusões de proteína, para rastreio. Quando se pretendem moléculas que competem para ligação a ligandos CCX-CKR2, os fragmento CCX-CKR2 usados são fragmentos capazes de ligar os anticorpos do invento. Alternativamente pode usar-se qualquer fragmento CCX-CKR2 como um alvo para identificar moléculas que ligam CCX-CKR2. Os fragmentos CCX-CKR2 podem incluir qualquer fragmento de, e.g., pelo menos 20, 30, 40, 50 aminoácidos até uma proteína contendo todos os aminoácidos de CCX-CKR2 à excepção de um. Tipicamente, os fragmentos de ligação de ligando compreenderão regiões transmembranares e/ou a maioria ou todos os domínios extracelulares de CCX-CKR2.

3. Actividade de sinalização ou adesão

Nalgumas concretizações, a sinalização desencadeada por activação CCX-CKR2 usa-se para identificar moduladores CCX-CKR2. A actividade de sinalização de receptores de quimiocina pode ser determinada de várias formas. Por exemplo, pode determinar-se sinalização por detecção de adesão celular mediada por receptor de quimiocina. As interacções entre quimiocinas e receptores de quimiocina podem levar a adesão

rápida através de modificação da afinidade e avidéz da integrina. Consultar, e.g., Laudanna, *Immunological Reviews* 186:37-46 (2002).

Pode também medir-se sinalização pela determinação, qualitativa e quantitativa, de mensageiros secundários tais como AMP cíclico ou inositolfosfatos, assim como se podem igualmente monitorizar eventos de fosforilação ou de desfosforilação. Consultar, e.g., Premack, *et al. Nature Medicine* 2: 1174-1178 (1996) e Bokoch, *Blood* 86:1649-1660 (1995).

Além disso, podem também monitorizar-se outros eventos a jusante da activação de CCX-CKR2 para determinar actividade de sinalização. Os eventos a jusante incluem as actividades ou manifestações que ocorrem em resultado de estímulo de um receptor de quimiocina. Os exemplos de eventos a jusante incluem, e.g., estado alterado de uma célula (e.g., de uma célula normal para uma célula de cancro ou de uma célula de cancro para uma célula não cancerosa). As respostas celulares incluem adesão de células (e.g., para células endoteliais). As cascatas de sinalização estabelecidas envolvidas em angiogénese (e.g., sinalização mediada por VEGF) podem ser também monitorizadas para efeitos provocados por moduladores CCX-CKR2. A capacidade dos agentes promoverem angiogénese pode avaliar-se, por exemplo, em membrana corioalantóica do embrião de pinto tal como discutido por Leung *et al.* (1989) *Science* 246:1306-1309. Outra opção é efectuar ensaios com córneas de rato tal como discutido por Rastinejad *et al.* (1989) *Cell* 56:345-355. Divulgam-se outros ensaios na patente U.S. Nº 5 840 693. Podem utilizar-se também modelos de angiogénese de ovário (consultar, e.g., Zimmerman, R.C., *et al.* (2003) *J. Clin. Invest.* 112:659-669; Zimmerman, R.C., *et al.* (2001) *Microvasc. Res.* 62:15-25; e Hixenbaugh, E.A., *et al.* (1993) *Anat. Rec.* 235: 487-500).

Outros métodos de rastreio baseiam-se na observação que a expressão de determinadas proteínas reguladoras é induzida pela presença ou activação de CCX-CKR2. Pode usar-se assim a detecção de tais proteínas para determinar indirectamente a actividade de CCX-CKR2. Efectuaram-se uma série de investigações de ELISA para comparar a concentração relativa

de várias proteínas excretadas para o meio de cultura celular para células transfectadas com CCX-CKR2 e células não transfectadas. Através desses estudos determinou-se que CCX-CKR2 induz a produção de várias proteínas regulatórias diferentes, incluindo factores de crescimento, quimiocinas, metaloproteinases e inibidores de metaloproteinases. Assim, alguns dos métodos de rastreio que se proporcionam envolvem determinar se um agente de ensaio modula a produção de determinados factores de crescimento, quimiocinas, metaloproteinases e inibidores de metaloproteinases por CCX-CKR2. Em alguns casos, efectuaram-se os ensaios com células (ou seus extractos) que cresceram em condições de soro limitativo visto que se verificou que tal aumentou a produção de proteínas induzidas por CCX-CKR2.

As seguintes proteínas são exemplos das diferentes classes de proteínas que foram detectadas, assim como proteínas específicas dentro de cada classe: (1) factores de crescimento (e.g., GM-CSF); (2) quimiocinas (e.g., RANTES, MCP-1); (3) citocinas (eg IL-6) (4) metaloproteinase (e.g., MMP3); e (5) inibidor de metaloproteinase (e.g., TIMP-1). Espera-se que outras proteínas nestas diferentes classes possam também ser detectadas.

Podem detectar-se estas proteínas específicas utilizando métodos de detecção imunológica padrão conhecidos na especialidade. Uma abordagem que é adequada para uso num formato de elevado rendimento, por exemplo, é ELISA efectuado em placas multi-poços. Está disponível de DakoCytomation um kit de ELISA para detectar TIMP-1 (código de produto nº EL513). Podem obter-se os kits de ELISA para IL-6 e MMP3 a partir de R and D Systems. Proporcionam-se nos exemplos seguintes exemplos adicionais de fornecedores de anticorpos que se ligam especificamente a proteínas listadas anteriormente. Podem também detectar-se proteínas tal como metaloproteinases que são enzimas por ensaios enzimáticos conhecidos.

Noutras concretizações abrangidas pelo âmbito do invento tal como definidas nas reivindicações, ensaiam-se moduladores de CCX-CK2 potenciais para a sua capacidade de modular adesão celular. A adesão de células de tumor a monocamadas de

células endoteliais tem sido estudada como um modelo de invasão metastática (consultar, e.g., Blood e Zetter, *Biochem. Biophys. Acta*, 1032, 89-119 (1990)). Estas monocamadas de células endoteliais mimetizam a vasculatura linfática e podem estimular-se com várias citocinas e factores de crescimento (e.g., TNF α e IL-1 β). Podem avaliar-se células que expressam CCX-CKR2 para a capacidade de aderir a esta monocamada tanto em ensaios de adesão estática como em ensaios nos quais as células estão sob condições de fluxo para mimetizar a força da vasculatura in vivo. Adicionalmente, podem também efectuar-se in vivo ensaios para avaliar adesão (consultar, e.g., von Andrian, U.H. *Microcirculation*. 3(3):287-300 (1996)).

4. Validação

Os agentes que são inicialmente identificados por qualquer dos métodos de rastreio anteriores podem ser adicionalmente ensaiados para validar a actividade aparente. Preferentemente tais estudos são efectuados com modelos animais adequados. O formato básico de tais métodos envolve administrar um composto líder identificado durante um rastreio inicial de um animal que serve como modelo de doença para humanos e seguidamente determinar se a doença (e.g., cancro, enfarte do miocárdio, cicatrização de feridas ou outras doenças relacionadas com angiogénese) é de facto modulada e/ou a doença ou distúrbio melhora. Os modelos animais utilizados em estudos de validação são geralmente mamíferos de qualquer tipo. Os exemplos específicos de animais adequados incluem primatas, ratinhos, ratos e peixes-zebra, não se lhes limitando.

Nalgumas concretizações, utilizam-se modelos animais de artrite para rastrear e/ou validar os usos terapêuticos para agentes que modulam CCX-CKR2. Os exemplos de modelos animais de artrite incluem, e.g., o modelo animal de artrite induzida por colagénio (CIA).

B. Agentes que interagem com CCX-CKR2

Os moduladores de CCX-CKR2 (e.g., antagonistas ou agonistas) podem incluir, e.g., anticorpos (incluindo

monoclonal, humanizado ou outros tipos de proteínas de ligação que são conhecidos na especialidade), moléculas orgânicas pequenas, ARNsi, polipéptidos CCX-CKR2 ou suas variantes, quimiocinas (incluindo SDF-1 e/ou I-TAC, não se lhes limitando), miméticos de quimiocina, polipéptidos quimiocina, etc.

Os agentes ensaiados como moduladores de CCX-CKR2 podem ser qualquer composto químico pequeno ou uma entidade biológica tal como um polipéptido, açúcar, ácido nucleico ou lípido. Alternativamente, os moduladores podem ser versões geneticamente alteradas ou versões peptidomiméticas de uma quimiocina ou outro ligando. Tipicamente, os compostos de ensaio serão moléculas químicas pequenas e péptidos. Pode usar-se essencialmente qualquer composto químico como um modulador ou ligando potencial nos ensaios dos métodos do invento, apesar de na maior parte das vezes se utilizarem compostos que podem ser dissolvidos em soluções aquosas ou orgânicas (especialmente baseadas em DMSO). Os ensaios são concebidos para rastrear grandes bibliotecas químicas por automatização das etapas de ensaio e proporcionar compostos de qualquer fonte conveniente para ensaios, que são tipicamente desenvolvidos em paralelo (e.g., em formatos de microtitulação em placas de microtitulação em ensaios robóticos). Considerar-se-á que existem muitos fornecedores de compostos químicos, incluindo Sigma (St. Louis, MO), Aldrich (St. Louis, MO), Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), Fluka Chemika-Biochemica Analytika (Buchs, Suíça) e semelhantes.

Nalgumas concretizações, os agentes têm um peso molecular inferior a 1 500 dalton e em alguns casos inferior a 1 000, 800, 600, 500 ou 400 dalton. O tamanho relativamente pequeno dos agentes pode ser desejável porque as moléculas mais pequenas têm uma maior probabilidade de apresentar propriedades físico-químicas compatíveis com boas características farmacocinéticas incluindo absorção oral do que os agentes com maior peso molecular. Por exemplo, os agentes com menos probabilidade de serem bem-sucedidos como fármacos com base na permeabilidade e solubilidade foram descritos por Lipinski *et al.* Como se segue: os que contêm mais de 5 dadores de ligações H (expressos como soma de OH e NH); os que têm um peso molecular superior a 500; os que têm

um LogP superior a 5 (ou MLogP superior a 4,15); e/ou que têm mais de 10 aceitadores de ligações H (expressos como soma de N e O). Consultar, e.g., Lipinski *et al.* *Adv Drug Delivery Res* 23:3-25 (1997). As classes de compostos que são substratos para transportadores biológicos são tipicamente excepções à regra.

Numa concretização, os métodos de rastreio de elevado rendimento envolvem proporcionar uma biblioteca química ou de péptidos combinatorial contendo um elevado número de compostos terapêuticos potenciais (compostos moduladores ou ligandos potenciais). Tais "bibliotecas químicas combinatoriais" ou "bibliotecas de ligandos" são então rastreadas em um ou mais ensaios, tal como aqui descritos, para identificar os membros da biblioteca (espécies ou subclasses químicas específicas) que apresentam uma actividade característica pretendida. Os compostos assim identificados podem servir de "compostos líder" convencionais ou podem eles próprios ser usados como agentes terapêuticos potenciais ou reais.

Uma biblioteca química combinatorial é uma colecção de compostos químicos diversos gerados quer por síntese química quer por síntese biológica, por combinação de vários "peças de construção" químicas. Por exemplo, uma biblioteca química combinatorial linear tal como uma biblioteca de polipéptidos forma-se por combinação de um conjunto de peças de construção químicas (aminoácidos) de todas as formas possíveis para determinado comprimento de composto (i.e., o número de aminoácidos num composto polipeptídico). Podem sintetizar-se milhões de compostos químicos através de tal mistura combinatorial de peças de construção químicas.

A preparação e rastreio de bibliotecas químicas combinatoriais são bem conhecidos dos peritos na especialidade. Tais bibliotecas químicas combinatoriais incluem bibliotecas de péptidos (consultar, e.g., patente U.S. 5 010 175, Furka, *Int. J. Pept. Prot. Res.* 37:487-493 (1991) e Houghton *et al.*, *Nature* 354:84-88 (1991)), não se lhes limitando. Podem também utilizar-se outras químicas para gerar bibliotecas de diversidade química. Tais químicas incluem: peptóides (e.g., publicação PCT n° WO 91/19735),

péptidos codificados (e.g., publicação PCT WO 93/20242), bio-oligómeros aleatórios (e.g., publicação PCT n° WO 92/00091), benzodiazepinas (e.g., patente U.S. n° 5 288 514), diversómeros tal como hidantoínas, benzodiazepinas e dipéptidos (Hobbs *et al.*, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 90:6909-6913 (1993)), polipéptidos vinilógos (Hagihara *et al.*, *J. Amer. Chem. Soc.* 114:6568 (1992)), peptidomiméticos não peptídicos com esqueleto de glucose (Hirschmann *et al.*, *J. Amer. Chem. Soc.* 114:9217-9218 (1992)), sínteses orgânicas análogas de bibliotecas de compostos pequenos (Chen *et al.*, *J. Amer. Chem. Soc.* 116:2661 (1994)), oligocarbamatos (Cho *et al.*, *Science* 261:1303 (1993)) e/ou peptidilfosfonatos (Campbell *et al.*, *J. Org. Chem.* 59:658 (1994)), bibliotecas de ácidos nucleicos (consultar Ausubel, Berger e Sambrook, todos anteriormente), bibliotecas de ácidos nucleicos peptídicos (consultar, e.g., patente U.S. 5 539 083), bibliotecas de anticorpos (consultar, e.g., Vaughn *et al.*, *Nature Biotechnology*, 14(3):309-314 (1996) e PCT/US96/10287 (WO/1997/000271)), bibliotecas de hidratos de carbono (consultar, e.g., Liang *et al.*, *Science*, 274:1520-1522 (1996) e patente U.S. 5 593 853), bibliotecas de moléculas orgânicas pequenas (consultar, e.g., benzodiazepinas, Baum C&EN, 18 de Janeiro, página 33 (1993); isoprenóides, patente U.S. 5 569 588; tiazolidinonas e metatiazanonas, patente U.S. 5 549 974; pirrolidinas, patentes U.S. 5 525 735 e 5 519 134; compostos morfolino, patente U.S. 5 506 337; benzodiazepinas, 5 288 514 e semelhantes), não se lhes limitando.

Os dispositivos para a preparação de bibliotecas combinatoriais estão disponíveis comercialmente (consultar, e.g., 357 MPS, 390 MPS, Advanced Chem Tech, Louisville KY, Symphony, Rainin, Woburn, MA, 433A Applied Biosystems, Foster City, CA, 9050 Plus, Millipore, Bedford, MA). Além disso, estão comercialmente disponíveis várias bibliotecas combinatoriais (consultar, e.g., ComGenex, Princeton, N.J., Tripos, Inc., St. Louis, MO, 3D Pharmaceuticals, Exton, PA, Martek Biosciences, Columbia, MD, etc.).

IV. Cancro, angiogénese e outros aspectos biológicos de CCX-CKR2

Podem pôr-se em contacto os anticorpos do invento com uma célula que expressa CCX-CKR2 *in vitro*, *in vivo* ou *ex vivo* (i.e., removido do corpo, tratado e voltado a introduzir no corpo). Os anticorpos do invento podem administrar-se directamente ao indivíduo mamífero para modulação da actividade do receptor de quimiocina *in vivo*. Em alguns casos, os anticorpos competem com SDF1 e/ou I-TAC para ligação a CCX-CKR2. De acordo com o invento, os anticorpos reconhecem o mesmo epítipo que o ligado pelas CDR em SEQ ID NO:12 e SEQ ID NO:14 ou SEQ ID NO:16 e SEQ ID NO: 18. Em algumas concretizações os anticorpos compreendem SEQ ID NO:12 e/ou SEQ ID NO:14 ou SEQ ID NO:16 e/ou SEQ ID NO:18.

Podem administrar-se anticorpos CCX-CKR2 a um indivíduo com cancro. Podem administrar-se moduladores CCX-CKR2 para tratar cancro, e.g., carcinomas, gliomas, mesoteliomas, melanomas, linfomas, leucemias, adenocarcinomas, cancro de mama, cancro do ovário, cancro cervical, glioblastoma, leucemia, linfoma, cancro da próstata e linfoma de Burkitt, cancro da cabeça e do pescoço, cancro do cólon, cancro colorrectal, cancro do pulmão de não-pequenas células, cancro do pulmão de pequenas células, cancro do esófago, cancro do estômago, cancro pancreático, cancro hepatobiliar, cancro da vesícula biliar, cancro do intestino delgado, cancro rectal, cancro do rim, cancro da bexiga, cancro da próstata, cancro do pénis, cancro da uretra, cancro testicular, cancro cervical, cancro vaginal, cancro uterino, cancro do ovário, cancro da tiróide, cancro da paratiróide, cancro das glândulas supra-renais, cancro endócrino pancreático, cancro carcinóide, cancro dos ossos, cancro da pele, retinoblastomas, linfoma de Hodgkin, linfoma não Hodgkin (consultar, CANCER:PRINCIPLES AND PRACTICE (DeVita, V.T. et al. ed 1997) para cancros adicionais); assim como disfunção cerebral e neuronal, tal como doença de Alzheimer e esclerose múltipla; disfunção renal; artrite reumatóide; rejeição de homotransplante cardíaco; aterosclerose; asma; glomerulonefrite; dermatite de contacto; doença inflamatória do intestino; colite; psoríase; lesão de perfusão; assim como outras doenças aqui descritas. Em algumas concretizações, o

indivíduo não tem sarcoma de Kaposi, doença multicêntrica de Castleman ou linfoma de efusão primária associada a SIDA.

Descreve-se a diminuição de angiogénese em qualquer indivíduo que dela necessite por administração de anticorpos do invento. Por exemplo, diminuir a actividade CCX-CKR2 pondo em contacto CCX-CKR2 com um anticorpo do invento, diminuindo assim a angiogénese, é útil para inibir a formação, crescimento e/ou metástase de tumores, especialmente tumores sólidos. A descrição de CCX-CKR2 modulada e angiogénese descreve-se em, e.g., pedido de patente U.S. nº 11/050 345 (US 2005/0214287 A1).

Outras doenças envolvendo angiogénese indesejada ou problemática incluem artrite reumatóide; psoríase; doenças angiogénicas oculares, por exemplo, retinopatia diabética, retinopatia da prematuridade, degeneração da mácula, rejeição de enxerto da córnea, glaucoma neovascular, fibroplasia retrolental, rubeose; síndrome de Osler-Webber; angiogénese do miocárdio; neovascularização da placa; telangiectasia; articulações hemofílicas; angiofibroma; doença de estímulo excessivo ou anómalo de células endoteliais, incluindo adesões intestinais, doença de Crohn, doenças de pele tal como psoríase, eczema e esclerodermia, diabetes, retinopatia diabética, retinopatia da prematuridade, degeneração da mácula relacionada com a idade, aterosclerose, escleroderma, granulação de feridas e cicatrizes hipertróficas, i.e., quelóides e doenças que têm angiogénese como uma consequência patológica tal como doença do arranhão do gato e úlceras (*Helicobacter pylori*), podem também ser tratadas com anticorpos do invento. Podem usar-se inibidores angiogénicos para prevenir ou inibir adesões, especialmente adesões intra-peritoneais ou pélvicas tal como as que resultam após cirurgia aberta ou laparoscópica e contracções das nádegas. Outras doenças que deveriam ser tratadas beneficemente usando os inibidores de angiogénese incluem prevenção da formação de cicatrizes após transplante, cirrose do fígado, fibrose pulmonar após síndrome de insuficiência respiratória aguda ou outras fibroses pulmonares do recém-nascido, implantação de próteses temporárias e adesões após cirurgia entre o cérebro e a dura-máter. A endometriose, a polipose, a hipertrofia cardíaca, assim como a obesidade, podem também ser tratadas

por inibição de angiogénese. Estas doenças podem envolver aumentos de tamanho ou crescimento de outros tipos de tecido normal, tal como fibróides uterinos, hipertrofia da próstata e amiloidose. Os anticorpos do presente invento podem usar-se profiláctica ou terapêuticamente para qualquer das doenças ou distúrbios aqui descritos.

A diminuição da actividade CCX-CKR2 com os anticorpos do presente invento pode também ser usada na prevenção de neovascularização para tratar eficazmente um hospedeiro de doenças. Assim, por exemplo, pode usar-se a diminuição de angiogénese como parte de um tratamento para doenças dos vasos sanguíneos (e.g., hemangiomas e proliferação capilar no interior de placas ateroscleróticas), doenças musculares (e.g., angiogénese do miocárdio, enfarte do miocárdio ou angiogénese no interior de músculos lisos), articulações (e.g., artrite, articulações hemofílicas, etc.) e outras doenças associadas a angiogénese. A promoção de angiogénese pode também auxiliar na aceleração de vários processos fisiológicos e tratamento de doenças que necessitem de vascularização aumentada tal como cicatrização de feridas, fracturas e queimaduras, doenças inflamatórias, coração isquémico e doenças vasculares periféricas.

Os anticorpos do presente invento podem também ser usados para melhorar a cicatrização de feridas. Sem pretender limitar o invento a um mecanismo de acção específico, pode ocorrer que o antagonismo de CCX-CKR2 permita que os ligandos endógenos liguem preferentemente a receptores de baixa afinidade, desencadeando assim cicatrização melhorada de feridas. Por exemplo, SDF-1 liga-se tanto a CCX-CKR2 como a CXCR4, mas liga-se a CXCR4 com menor afinidade. De igual modo, I-TAC liga-se a CXCR3 com menor afinidade do que I-TAC se liga a CCX-CKR2. Ao evitar a ligação destes ligandos a CCX-CKR2, os antagonistas de CCX-CKR2 podem permitir que os ligandos se liguem aos outros receptores melhorando assim a cicatrização de feridas. Assim, o antagonismo de CCX-CKR2 para melhorar a cicatrização de feridas pode ser mediado por um mecanismo diferente do que a melhoria da cicatrização de feridas por estimulação de actividade CCX-CKR2 com um agonista.

Além de tratar doenças e sintomas associados com neovascularização, a inibição da angiogénese pode ser utilizada para modular ou evitar a ocorrência de condições fisiológicas normais associadas com neovascularização, por exemplo como um método contraceptivo. A diminuição da actividade CCX-CKR2 no interior dos ovários ou do endométrio pode atenuar a neovascularização associada a ovulação, implantação de um embrião, formação de placenta, etc.

Os inibidores de angiogénese têm ainda outros usos terapêuticos. Por exemplo, os anticorpos do presente invento podem ser usados para o seguinte:

(a) Ablação de tecido adiposo e tratamento de obesidade. Consultar, e.g., Kolonin et al., *Nature Medicine* 10(6):625-632 (2004);

(b) Tratamento de pré-eclampsia. Consultar, e.g., Levine et al., *N. Engl. J. Med* 350(7): 672-683 (2004); Maynard, et al., *J. Clin. Invest.* 111(5): 649-658 (2003); e

(c) Tratamento de doença cardiovascular. Consultar, e.g., March, et al., *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 287:H458-H463 (2004); Rehman et al., *Circulation* 109: 1292-1298 (2004).

V. Administração e composições farmacêuticas

As composições farmacêuticas descritas podem compreender, e.g., um anticorpo do presente invento e um transportador farmacêuticamente aceitável. Os transportadores farmacêuticamente aceitáveis são determinados em parte pela composição específica a ser administrada, assim como pelo método específico utilizado para administrar a composição. Assim, existe uma vasta variedade de formulações adequadas para as composições farmacêuticas descritas (consultar, e.g., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17^a ed. 1985)).

As formulações adequadas para administração incluem soluções aquosas e não aquosas, soluções estéreis isotónicas, que podem conter antioxidantes, tampões, bacteriostáticos e solutos que tornam a formulação isotónica e suspensões estéreis aquosas e não aquosas que podem incluir agentes de suspensão, solubilizantes, agentes espessantes,

estabilizantes e conservantes. As composições podem ser administradas, por exemplo, oralmente, nasalmente, topicamente, intravenosamente, intraperitonealmente, subcutaneamente ou intratecalmente. As formulações de compostos podem ser apresentadas em doses únicas ou múltiplas em recipientes selados, tais como ampolas e frasquinhos. Podem preparar-se soluções e suspensões a partir de pós, grânulos e comprimidos estéreis do tipo anteriormente descrito.

A composição pode ser administrada com recurso a uma bomba de infusão, por exemplo, do tipo usado para entregar insulina ou quimioterapia a órgãos ou tumores específicos. Podem injectar-se as composições usando uma seringa ou cateter directamente num tumor ou no local de um tumor primário antes ou após excisão; ou sistemicamente após excisão do tumor primário. As composições podem ser administradas tópica ou localmente tal como necessário. Para administração local prolongada, podem administrar-se os anticorpos num implante de libertação controlada injectado no local de um tumor. Alternativamente podem transfectar-se as células de um indivíduo *ex vivo* com plasmídeos de modo a expressar o anticorpo do invento e subsequentemente injectar-se no local do tumor. Para tratamento tópico de uma doença de pele, podem administrar-se os anticorpos enzimáticos na pele numa pomada ou gel.

Os anticorpos CCX-CKR2 do presente invento podem ser administrados em combinação com outros agentes terapêuticos apropriados incluindo, e.g., agentes quimioterapêuticos, radiação, etc. A selecção do agente apropriado para uso em terapia de combinação pode ser feita pelo perito na especialidade de acordo com princípios farmacêuticos convencionais. A combinação de agentes terapêuticos pode actuar de forma sinérgica para efectuar o tratamento ou prevenção de várias doenças tais como, e.g., cancro, feridas, disfunção renal, disfunção cerebral ou disfunção neuronal. Utilizando esta abordagem, pode obter-se eficácia terapêutica com menores dosagens de cada agente, reduzindo assim o potencial para efeitos secundários adversos.

A dose administrada a um doente deve ser suficiente para causar uma resposta benéfica no indivíduo ao longo do tempo (e.g., para reduzir o tamanho do tumor ou a carga de tumor). O nível de dose óptimo para qualquer doente dependerá de vários factores incluindo a eficácia do modulador específico utilizado, a idade, peso corporal, actividade física e dieta do doente, da possível combinação com outros fármacos e da gravidade de uma doença em particular. A dimensão da dose também será determinada pela existência, natureza e extensão de quaisquer efeitos adversos que acompanhem a administração de um composto ou vector particular a um indivíduo específico.

Para determinar a quantidade eficaz do anticorpo a ser administrada, o médico pode avaliar os níveis de anticorpo no plasma circulante, a toxicidade do anticorpo e a produção de anticorpos anti-anticorpo. De um modo geral, a dose equivalente de um anticorpo é desde cerca de 1 ng/kg a 10 mg/kg para um indivíduo típico.

Para administração, os anticorpos do presente invento podem ser administrado a uma taxa determinada pelo LD-50 do anticorpo e os efeitos secundários do anticorpo a diferentes concentrações, tal como aplicado à massa e saúde global do indivíduo. A depuração do anticorpo pelo sistema imunitário do recebedor pode também afectar a dosagem adequada a administrar. A administração pode ser efectuada através de uma dose simples ou em doses divididas.

As composições contendo anticorpos do invento podem ser administradas para tratamentos terapêuticos ou profilácticos. Nas aplicações terapêuticas, administram-se as composições a um doente que sofra de uma doença (e.g., um cancro, artrite ou outra doença relacionada com CCX-CKR2) numa quantidade suficiente para curar ou pelo menos parar parcialmente a doença e as suas complicações, e.g., diminuição de tamanho do tumor, etc. Uma quantidade adequada para obter tal efeito é definida como uma "dose terapeuticamente eficaz". As quantidades eficazes para esta utilização dependerão da gravidade da doença e do estado geral de saúde do doente. Podem ser administradas administrações únicas ou múltiplas das composições dependendo da dosagem e frequência tal como

necessário e tolerado pelo doente. Em qualquer caso, a composição deveria proporcionar uma quantidade suficiente dos agentes deste invento para tratar eficazmente o doente. Uma quantidade de modulador que é capaz de evitar ou abrandar o desenvolvimento de cancro num mamífero é referida como uma "dose profilacticamente eficaz". A dose específica requerida para um tratamento profiláctico dependerá da condição médica e da história do mamífero, do cancro específico a evitar, assim como de outros factores tais como idade, peso, género, via de administração, eficácia, etc. Tais tratamentos profilácticos podem utilizar-se, e.g., num mamífero que teve cancro anteriormente para prevenir uma recidiva do cancro ou num mamífero que se suspeita ter uma probabilidade significativa de desenvolver cancro.

VI. Terapias de combinação

Os anticorpos do invento podem ser fornecidos sozinhos ou em conjunção com um ou mais outros fármacos. Os possíveis parceiros de combinação podem incluir, e.g., factores anti-angiogénicos adicionais e/ou agentes quimioterapêuticos (e.g., agentes citotóxicos) ou radiação, uma vacina de cancro, um agente imunomodulatório, um agente anti-vascular, um inibidor de transdução de sinal, um agente antiproliferativo ou um indutor de apoptose.

Podem usar-se os anticorpos do invento em conjunção com anticorpos e péptidos que bloqueiam o envolvimento de integrina, proteínas e moléculas pequenas que inibem as metaloproteinases (e.g., marmistat), agentes que bloqueiam cascatas de fosforilação no interior de células endoteliais (e.g., herbamicina), receptores negativos dominantes para indutores de angiogénese conhecidos, anticorpos contra indutores de angiogénese ou outros compostos que bloqueiam a sua actividade (e.g., suramina) ou outros compostos (e.g., retinóides, IL-4, interferões, etc.) actuando por outros meios. De facto, dado que tais factores podem modular angiogénese por diferentes mecanismos, a utilização de anticorpos do invento em combinação com outros agentes antiangiogénicos pode potenciar uma inibição mais potente (e potencialmente sinérgica) de angiogénese no interior do tecido pretendido.

Os agentes anti-angiogénese, tais como inibidores de MMP-2 (metaloproteinase da matriz 2), inibidores de MMP-9 (metaloproteinase da matriz 9) e inibidores de COX-II (ciclo-oxigenase II), podem ser utilizados em conjunção com anticorpos do invento e composições farmacêuticas aqui descritas. Os anticorpos anti-CCX-CKR2 do invento podem também ser usados com inibidores de transdução de sinal, tais como agentes que podem inibir respostas EGFR (receptor de factor de crescimento epidérmico), tal como anticorpos EGFR, anticorpos EGF e moléculas que são inibidores de EGFR; inibidores de VEGF (factor de crescimento endotelial vascular), tal como receptores VEGF e moléculas que podem inibir VEGF; e inibidores de receptor erbB2, tal como moléculas orgânicas ou anticorpos que se ligam ao receptor erbB2, por exemplo, HERCEPTIN™ (Genentech, Inc. de South San Francisco, Calif., E.U.A.).

Os anticorpos anti-CCX-CKR2 do invento podem também ser combinados com outros fármacos incluindo fármacos que promovem angiogénese e/ou cicatrização de feridas. Os peritos na especialidade considerarão que se pode incorporar uma ou mais substâncias úteis do ponto de vista médico-cirúrgico ou agentes terapêuticos, e.g., aqueles que podem intensificar adicionalmente a resposta angiogénica e/ou acelerar e/ou modificar benéficamente o processo de cicatrização quando a composição é aplicada ao local pretendido que necessita de angiogénese. Por exemplo, para promover adicionalmente a angiogénese, reparação e/ou crescimento de tecido podem incluir-se na composição pelo menos uma de entre várias hormonas, factores de crescimento ou proteínas mitogénicas, e.g., factor de crescimento de fibroblastos, factor de crescimento derivado de plaquetas, factor de crescimento derivado de macrófagos, etc. Adicionalmente, podem incluir-se agentes antimicrobianos nas composições, e.g., antibióticos tais como sulfato de gentamicina ou eritromicina. Outros agentes úteis do ponto de vista médico-cirúrgico podem incluir anti-inflamatórios, analgésicos, anestésicos, rubefacientes, enzimas, anti-histaminas e corantes.

Os anticorpos anti-CCX-CKR2 do invento podem também ser combinados com outros fármacos incluindo fármacos para

tratamento de artrite. Os exemplos de tais agentes incluem agentes terapêuticos anti-inflamatórios. Por exemplo, os glucocorticosteróides, tais como prednisolona e metilprednisolona, são fármacos anti-inflamatórios muitas vezes utilizados. Os fármacos anti-inflamatórios não esteróides (NSAID) são também utilizados para suprimir a inflamação. Os NSAID inibem as enzimas ciclo-oxigenases (COX), COX-1 e COX-2, que são fundamentais para a produção de prostaglandinas produzidas em excesso nos locais de inflamação. Além disso, a citocina promotora de inflamação, factor de necrose de tumor α (TNF α), está associada com múltiplos eventos de inflamação incluindo artrite e estão a ser usadas clinicamente terapias anti-TNF α .

VII. Kits para utilização em aplicações de diagnóstico e/ou prognóstico

Também se descrevem kits para utilização nas aplicações de diagnóstico, de investigação e terapêuticas anteriormente sugeridas. Nas aplicações de diagnóstico e investigação tais kits podem incluir qualquer ou todos dos seguintes: reagentes de ensaio, tampões e anticorpos anti-CCX-CKR2 do invento. Um produto terapêutico pode incluir soro fisiológico estéril ou outra emulsão e base de suspensão farmacologicamente aceitável.

Além disso, os kits podem incluir materiais instrutivos contendo orientações (i.e., protocolos) para a prática dos métodos deste invento. Apesar dos materiais instrutivos compreenderem tipicamente materiais escritos ou impressos, não se limitam a estes. Abrange-se qualquer meio capaz de armazenar tais instruções e de as comunicar a um utilizador final. Tais meios incluem meios de armazenamento electrónico (e.g., discos magnéticos, cassetes, cartuchos, chips), meios ópticos (e.g., CD ROM) e semelhantes, não se lhes limitando. Tais meios podem incluir moradas de portais de internet que proporcionam tais materiais instrutivos.

EXEMPLOS

A produção de anticorpos contra receptores acoplados a proteína G (GPCR) tem sido reconhecidamente difícil.

Utilizamos o método de Genovac AG, DE descrito na generalidade no pedido de patente canadiana CA 2 350 078. Criaram-se anticorpos que ligam CCX-CKR2 por inoculação de ratinhos com ADNc que expressa CCX-CKR2 (SEQ ID NO:1). Sucintamente clonou-se CCX-CKR2 num vector de expressão e inocularam-se ratinhos com o vector pelo método de biobalística. Num ponto temporal adequado, isolaram-se células B, fundiram-se com células de mieloma por técnicas padrão e seleccionaram-se células de hibridoma fundidas em cultura *in vitro*. Analisaram-se sobrenadantes de culturas clonais relativamente a ligação a células com transfecção estável de CCX-CKR2 por citometria de fluxo. Amplificaram-se os clones positivos e submeteram-se a rondas adicionais de rastreio por citometria de fluxo.

Determinou-se que os anticorpos monoclonais 6E10 e 11G8 se ligam a CCX-CKR2. Os anticorpos 6E10 e 11G8 detectaram CCX-CKR2 em linhas celulares transfectadas que não produzem CCX-CKR2 endogenamente, assim como em células que expressam CCX-CKR2 endogenamente, tais como HeLa e MCF-7 (ATCC, VA). Adicionalmente, os anticorpos foram capazes de reconhecer o homólogo de ratinho de CCX CKR2. Por exemplo, os anticorpos 6E10 e 11G8 detectaram CCX-CR2 numa linha celular de tumor de mama de ratinho 4T1 e em células de carcinoma de pulmão Lewis (ATCC, Va). Detectaram-se os anticorpos 6E10 e 11G8, mas não os isotipos de controlo numa linha celular HEK 293 transfectada com CCX-CKR2, mas não se ligaram a células HEK 293 transfectadas com um vector vazio ou às que expressam outros receptores de quimiocina (e.g., CXCR2).

Os anticorpos foram também neutralizantes, tal como demonstrado por ensaios de ligação competitiva de radioligando. Ambos os anticorpos 6E10 e 11G8 competem com SDF-1 e I-TAC para ligação a CCX-CKR2 tanto de ratinho como humano. O anticorpo 11G8 apresentou tipicamente uma maior percentagem de inibição de ligação de quimiocina do que o anticorpo 6E10.

Os anticorpos 6E10 e 11G8 também reconhecem CCX-CKR2 em ensaios imuno-histoquímicos (IHC) em secções de tecido embebidos em parafina fixadas. Em experiências em vários tipos de tecidos, a coloração IHC com anticorpos 6E10 e 11G8

foi equivalente aos padrões de expressão determinados com ensaios de ligação de incorporação de SDF ou I-TAC marcados radioquimicamente nos respectivos tecidos. Verificou-se, por exemplo, coloração CCX-CKR2 em secções de E13 fetal de ratinho, mas não em secções de E17 de ratinho fetal ou adulto. Observou-se igualmente coloração CCX-CKR2 em cito-centrifugações de células que expressam CCX-CKR2 humana de forma estável.

Determinou-se a sequência de codificação da região variável de cadeia pesada e leve, assim como as sequências de aminoácidos previstas. A região variável de cadeia pesada de 6E10 está contida em SEQ ID NO:12 (codificada por SEQ ID NO:11). A região variável de cadeia leve de 6E10 está contida em SEQ ID NO:14 (codificada por SEQ ID NO:13). A região variável de cadeia pesada de 11G8 está contida em SEQ ID NO:16 (codificada por SEQ ID NO:15). A região variável de cadeia leve de 11G8 está contida em SEQ ID NO:18 (codificada por SEQ ID NO:17)

LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

SEQ ID NO:1 sequência de codificação de CCX-CKR2

```
ATGGATCTGCATCTCTTCGACTACTCAGAGCCAGGGAAGTTCTCGGACATCAGCT
GGCCATGCAACAGCAGCGACTGCATCGTGGTGGACACGGTGATGTGTCCCAACA
TGCCCAACAAAAGCGTCCTGCTCTACACGCTCTCCTTCATTTACATTTTCATCTTC
GTCATCGGCATGATTGCCAACTCCGTGGTGGTCTGGGTGAATATCCAGGCCAAGA
CCACAGGCTATGACACGCACTGCTACATCTTGAACCTGGCCATTGCCGACCTGTG
GGTTGTCCTCACCATCCCAGTCTGGGTGGTCAGTCTCGTGCAGCACAACCAGTGG
CCCATGGGCGAGCTCACGTGCAAAGTCACACACCTCATCTTCTCCATCAACCTCT
TCGGCAGCATTTTCTTCCTCACGTGCATGAGCGTGGACCGCTACCTCTCCATCACC
TACTTCACCAACACCCCCAGCAGCAGGAAGAAGATGGTACGCCGTGTCGTCTGC
ATCCTGGTGTGGCTGCTGGCCTTCTGCGTGTCTCTGCCTGACACCTACTACCTGAA
GACCGTCACGTCTGCGTCCAACAATGAGACCTACTGCCGGTCCTTCTACCCCGAG
CACAGCATCAAGGAGTGGCTGATCGGCATGGAGCTGGTCTCCGTTGTCTTGGGCT
TTGCCGTTCCCTTCTCCATTATCGCTGTCTTCTACTTCCTGCTGGCCAGAGCCATC
TCGGCGTCCAGTGACCAGGAGAAGCACAGCAGCCGGAAGATCATCTTCTCCTAC
GTGGTGGTCTTCTTGTCTGCTGGCTGCCCTACCACGTGGCGGTGCTGCTGGACA
TCTTCTCCATCCTGCACTACATCCCTTTACCTGCCGGCTGGAGCACGCCCTCTTC
ACGGCCCTGCATGTACACAGTGCCTGTGCTGGTGCAGTCTGCTGCGTCAACCTGT
TCCTCTACAGCTTCATCAATCGCAACTACAGGTACGAGCTGATGAAGGCCTTCAT
CTCAAGTACTCGGCCAAAACAGGGCTCACCAAGCTCATCGATGCCTCCAGAGTC
TCAGAGACGGAGTACTCTGCCTTGGAGCAGAGCACCAAATGA
```

SEQ ID NO:2 sequência de aminoácidos de CCX-CKR2

MDLHLFDYSEPGNFSDISWPCNSSDCIVVDTVMCPNMPNKSVELLYTLSFIYIFIFVIGM
IANSVVVWVNIQAKTTGYDTHCYILNLAIADLWVVLTPVWVVSLSVQHNQWPMGEL
TCKVTHLIFSINLFGSIFFLTCMSVDRYLSITYFTNTPSSRKKMVRRVVCILVWLLAFC
VSLPDTYYLKTVTSASNNETYCRSFYPEHSIKEWLIGMELVSVVLGFAVPFSIIAVFYF
LLARAISSASSDQEKHSSRKIIFSYYVVFLVCWLPYHVAVLLDIFSILHYIPFTCRLEHAL
FTALHVTQCLSLVHCCVNPVLYSFINRNYRYELMKAFIFKYSAKTGLTKLIDASRVSE
TEYSALEQSTK

SEQ ID NO:3 sequência de codificação de CCX-CKR2.2

ATGGATCTGCACCTCTTCGACTACGCCGAGCCAGGCAACTTCTCGGACATCAGCT
GGCCATGCAACAGCAGCGACTGCATCGTGGTGGACACGGTGATGTGTCCCAACA
TGCCCAACAAAAGCGTCCTGCTCTACACGCTCTCCTTCATTTACATTTTCATCTTC
GTCATCGGCATGATTGCCAACTCCGTGGTGGTCTGGGTGAATATCCAGGCCAAGA
CCACAGGCTATGACACGCACTGCTACATCTTGAACCTGGCCATTGCCGACCTGTG
GGTTGTCCTCACCATCCCAGTCTGGGTGGTCACTCTCGTGCAGCACAAACAGTGG
CCCATGGGCGAGCTCACGTGCAAAGTCACACACCTCATCTTCTCCATCAACCTCT
TCAGCGGCATTTTCTTCTCACGTGCATGAGCGTGGACCGCTACCTCTCCATCACC
TACTTCACCAACACCCCCAGCAGCAGGAAGAAGATGGTACGCCGTGTCTGTCTGC
ATCCTGGTGTGGCTGCTGGCCTTCTGCGTGTCTCTGCCTGACACCTACTACCTGAA
GACCGTCACGTCTGCGTCCAACAATGAGACCTACTGCCGGTCTTCTACCCCGAG

CACAGCATCAAGGAGTGGCTGATCGGCATGGAGCTGGTCTCCGTTGTCTTGGGCT
TTGCCGTTCCTTCTCCATTATCGCTGTCTTCTACTTCTGCTGGCCAGAGCCATC
TCGGCGTCCAGTGACCAGGAGAAGCACAGCAGCCGGAAGATCATCTTCTCCTAC
GTGGTGGTCTTCTTGTCTGCTGGCTGCCCTACCACGTGGCGGTGCTGCTGGACA
TCTTCTCCATCCTGCACTACATCCCTTTACCTGCCGGCTGGAGCACGCCCTCTTC
ACGGCCCTGCATGTCACACAGTGCCTGTGCTGGTGCCTGCTGCGTCAACCTG
TCCTCTACAGCTTCATCAATCGCAACTACAGGTACGAGCTGATGAAGGCCTTCAT
CTTCAAGTACTCGGCCAAAACAGGGCTCACCAAGCTCATCGATGCCTCCAGAGTG
TCGGAGACGGAGTACTCCGCCTTGGAGCAAAACGCCAAGTGA

SEQ ID NO:4 sequência de aminoácidos de CCX-CKR2.2

MDLHLFDYAEPGNFSDISWPCNSSDCIVVDTVMCPNMPNKSVELLYTLSFIYIFIFVIGM
IANSVVVWVNIQAKTTGYDTHCYILNLAIADLWVVLTPVWVVSLSVQHNQWPMGEL
TCKVTHLIFSINLFGSIFFLTCMSVDRYLSITYFTNTPSSRKKMVRRVVCILVWLLAFC
VSLPDTYYLKTVTSASNNETYCRSFYPEHSIKEWLIGMELVSVVLGFAVPFSIIAVFYF
LLARAISSASSDQEKHSSRKIIFSYYVVFLVCWLPYHVAVLLDIFSILHYIPFTCRLEHAL
FTALHVTQCLSLVHCCVNPVLYSFINRNYRYELMKAFIFKYSAKTGLTKLIDASRVSE
TEYSALEQNAK

SEQ ID NO:5 sequência de codificação de CCX-CKR2.3

ATGGATCTGCATCTCTTCGACTACTCAGAGCCAGGGAACCTTCTCGGACATCAGCT
GGCCATGCAACAGCAGCGACTGCATCGTGGTGGACACGGTGATGTGTCCCAACA
TGCCCAACAAAAGCGTCCTGCTCTACACGCTCTCCTTCATTTACATTTTCATCTTC
GTCATCGGCATGATTGCCAACTCCGTGGTGGTCTGGGTGAATATCCAGGCCAAGA
CCACAGGCTATGACACGCACTGCTACATCTTGAACCTGGCCATTGCCGACCTGTG
GGTTGTCCTACCATCCCAGTCTGGGTGGTCAGTCTCGTGCAGCACAACCAGTGG
CCCATGGGCGAGCTCACGTGCAAAGTCACACACCTCATCTTCTCCATCAACCTCT
TCGGCAGCATTTTCTTCCTCACGTGCATGAGCGTGGACCGCTACCTCTCCATCACC
TACTTCACCAACACCCCCAGCAGCAGGAAGAAGATGGTACGCCGTGTCGTCTGC
ATCCTGGTGTGGCTGCTGGCCTTCTGCGTGTCTCTGCCTGACACCTACTACCTGAA
GACCGTCACGTCTGCGTCCAACAATGAGACCTACTGCCGGTCCTTCTACCCCGAG
CACAGCATCAAGGAGTGGCTGATCGGCATGGAGCTGGTCTCCGTTGTCTTGGGCT
TTGCCGTCCCTTCTCCATTGTGCTGTCTTCTACTTCTGCTGGCCAGAGCCATC
TCGGCGTCCAGTGACCAGGAGAAGCACAGCAGCCGGAAGATCATCTTCTCCTAC
GTGGTGGTCTTCCTTGTCTGCTGGTTGCCCTACCACGTGGCGGTGCTGCTGGACAT
CTTCTCCATCCTGCACTACATCCCTTTCACCTGCCGGCTGGAGCACGCCCTCTCA
CGGCCCTGCATGTCACACAGTGCCTGTGCTGGTGCAGTCTGCTGCGTCAACCTGT
CCTCTACAGCTTCATCAATCGCAACTACAGGTACGAGCTGATGAAGGCCTTCATC
TTCAAGTACTCGGCCAAAACAGGGCTCACCAAGCTCATCGATGCCTCCAGAGTCT
CAGAGACGGAGTACTCTGCCTTGGAGCAGAGCACCAAATGA

SEQ ID NO:6 sequência de aminoácidos de CCX-CKR2.3

MDLHLFDYSEPGNFSDISWPCNSSDCIVVDTVMCPNMPNKSVELLYTSLFIYIFIFVIGM
IANSVVVWVNIQAKTTGYDTHCYILNLAIADLWVVLTPVWVVSLSVQHNQWPMGEL
TCKVTHLIFSINLFGSIFFLTCMSVDRLSITYFTNTPSSRKKMVRRVVCILVWLLAFC
VSLPDTYYLKTVTSASNNETYCRSFYPEHSIKEWLIGMELVSVVLGFVFPFSIVAVFY
FLLARAISSDQEKHSSRKIIFSYYVVVFLVCWLPYHVAVLLDIFSILHYIPFTCRLEHA

LFTALHVTQCLSLVHCCVNPVLYSFINRNYRYELMKAFIFKYS AKTGLTKLIDASRV
SETEYSALQSTK

SEQ ID NO:7 sequência de codificação de CCX-CKR2.4

ATGGATCTGCATCTCTTCGACTACTCAGAGCCAGGGAACCTTCTCGGACATCAGCT
GGCCATGCAACAGCAGCGACTGCATCGTGGTGGACACGGTGATGTGTCCCAACA
TGCCCAACAAAAGCGTCCTGCTCTACACGCTCTCCTTCATTTACATTTTCATCTTC
GTCATCGGCATGATTGCCAACTCCGTGGTGGTCTGGGTGAATATCCAGGCCAAGA
CCACAGGCTATGACACGCACTGCTACATCTTGAACTGGCCATTGCCGACCTGTG
GGTTGTCCTACCATCCCAGTCTGGGTGGTCTGAGTCTCGTGCAGCACAACCAGTGG
CCCATGGGCGAGCTCACGTGCAAAGTCACACACCTCATCTTCTCCATCAACCTCT
TCGGCAGCATTTTCTTCCTCACGTGCATGAGCGTGGACCGCTACCTCTCCATCACC
TACTTCACCAACACCCCCAGCAGCAGGAAGAAGATGGTACGCCGTGTCTGTCTGC
ATCCTGGTGTGGCTGCTGGCCTTCTGCGTGTCTCTGCCTGACACCTACTACCTGAA
GACCGTCACGTCTGCGTCCAACAATGAGACCTACTGCCGGTCCTTCTACCCCGAG
CACAGCATCAAGGAGTGGCTGATCGGCATGGAGCTGGTCTCCGTTGTCTTGGGCT
TTGCCGTTCCCTTCTCCATTATCGCTGTCTTCTACTTCTGCTGGCCAGAGCCATC
TCGGCGTCCAGTGACCAGGAGAAGCACAGCAGCCGGAAGATCATCTTCTCCTAC
GTGGTGGTCTTCTTGTCTGCTGGCTGCCCTACCACGTGGCGGTGCTGCTGGACA
TCTTCTCCATCCTGCACTACATCCCTTTCACCTGCCGGCTGGAGCACGCCCTCTTC
ACGGCCCTGCATGTCACACAGTGCCTGTGCTGGTGCAGTCTGCTGCGTCAACCTG
TCCTCTACAGCTTCATCAATCGCAACTACAGGTACGAGCTGATGAAGGCCTTCAT
CTTCAAGTACTCGGCCAAAACAGGGCTCACCAAGCTCATCGATGCCTCCAGAGTC
TCAGAGACGGAGTACTCTGCCTTGGAGCAGAGCACCAAATGA

SEQ ID NO:8 sequência de aminoácidos de CCX-CKR2.4

MDLHLFDYSEPGNFSDISWPCNSSDCIVVDTVMCPNMPNKSULLYTLSTFIYIFVIGM
IANSVVVWVNIQAKTTGYDTHCYILNLAIADLWVVLTPVWVSVSLVQHNQWPMGEL
TCKVTHLIFSINLFGSIFLTCMSVDRLSITYFTNTPSSRKKMVRRVVCILVWLLAFC
VSLPDTYYLKTVTSASNNETYCRSFYPEHSIKELWLGMELVSVVLGFVAVPFSIIAVFYF
LLARAISSSDQEKHSSRKIFSYVVVFLVCWLPYHVAVLLDIFSILHYIPFTCRLEHAL
FTALHVTQCLSLVHCCVNPVLYSFNRYRYELMKAFIFKYSAGTGLTKLIDASRVSE
TEYSALEQSTK

SEQ ID NO:9 sequência de codificação de CCX-CKR2.5

ATGGATCTGCATCTCTTCGACTACTCAGAGCCAGGGAACCTTCTCGGACATCAGCT
GGCCGTGCAACAGCAGCGACTGCATCGTGGTGGACACGGTGATGTGTCCCAACA
TGCCCAACAAAAGCGTCCTGCTCTACACGCTCTCCTTCATTTACATTTTCATCTTC
GTCATCGGCATGATTGCCAACTCCGTGGTGGTCTGGGTGAATATCCAGGCCAAGA
CCACAGGCTATGACACGCACTGCTACATCTTGAACTGGCCATTGCCGACCTGTG
GGTTGTCCTACCATCCCAGTCTGGGTGGTCTGAGTCTCGTGCAGCACAACCAGTGG
CCCATGGGCGAGCTCACGTGCAAAGTCACACACCTCATCTTCTCCATCAACCTCT
TCAGCAGCATTTTCTTCCTCACGTGCATGAGCGTGGACCGCTACCTCTCCATCACC
TACTTCACCAACACCCCCAGCAGCAGGAAGAAGATGGTACGCCGTGTCTGTCTGC
ATCCTGGTGTGGCTGCTGGCCTTCTGCGTGTCTCTGCCTGACACCTACTACCTGAA
GACCGTCACGTCTGCGTCCAACAATGAGACCTACTGCCGGTCCTTCTACCCCGAG
CACAGCATCAAGGAGTGGCTGATCGGCATGGAGCTGGTCTCCGTTGTCTTGGGCT

TTGCCGTTCCCTTCTCCATTATCGCTGTCTTCTACTTCCTGCTGGCCAGAGCCATC
TCGGCGTCCAGTGACCAGGAGAAGCACAGCAGCCGGAAGATCATCTTCTCCTAC
GTGGTGGTCTTCCTTGTCTGCTGGTTGCCCTACCACGTGGCGGTGCTGCTGGACAT
CTTCTCCATCCTGCACTACATCCCTTTCACCTGCCGGCTGGAGCACGCCCTCTTCA
CGGCCCTGCATGTCACACAGTGCCTGTGCTGCTGGTGAAGTCAACCCCTGT
CCTCTACAGCTTCATCAATCGCAACTACAGGTACGAGCTGATGAAGGCCTTCATC
TTCAAGTACTCGGCCAAAACAGGGCTCACCAAGCTCATCGATGCCTCCAGAGTCT
CAGAGACGGAGTACTCCGCCTTGGAGCAGAGCACCAAATGA

SEQ ID NO:10 sequência de aminoácidos de CCX-CKR2.5

MDLHLFDYSEPGNFSDISWPCNSSDCIVVDTVMCPNMPNKSVELLYTSLFIYIFIFVIGM
IANSVVVWVNIQAKTTGYDTHCYILNLAIALDLWVVLTPVWVVSLLVQHNQWPMGEL
TCKVTHLIFSINLFSIFFLTCMSVDRYLSITYFTNTPSSRKKMVRRVVCILVWLLAFC
VSLPDTYYLKTVTSASNNETYCRSFYPEHSIKEWLIGMELVSVVLGFAVPFSIIAVFYF
LLARAISSSDQEKHSSRKIIFSYYVVLVLCWLPYHVAVLDDIFSILHYIPFTCRLEHAL
FTALHVTQCLSLVHCCVNPVLYSFINRNYRYELMKAFIFKYSAKTGLTKLIDASRVSE
TEYSALEQSTK

SEQ ID NO:11 sequência de ADN para a região variável de
cadeia pesada do anticorpo 6E10

ATGTAATTGGGACTGAGCTGTGTATTTCATTGTTTTCTCTTAAAAGGTGTCCAGTG
TGAGGTGAAGCTGGATGAGACTGGAGGAGGCTTGGTGCAACCTGGGAGGCCCAT
GAAACTCTCCTGTGTTGCCTCTGGATTCACTTTTAGTGACTACTGGATGAACTGG
GTCCGCCAGTCTCCAGAAAAAGGACTGGAGTGGGTAGGACAAATTAGAAACAAA
CCTTATAATTATGAAACATATTATTCAGATTCTGTGAAAGGCAGATTACCATCT
CAAGAGATGATTCCAAAAGTAGTGTCTACCTGCAAATGAACAACTTAAGAACTG
AAGACACGGGTATCTACTACTGTACATCCTTACGTTACTGGGGCCAAGGAACTCT
GGTCACTGTCTCTGCAGCCAAAACGACACCCCCATCCGTGTATCCTGTGGCCCCT
GGAAGCTTGGG

SEQ ID NO:12 sequência de aminoácidos para a região variável
de cadeia pesada do anticorpo 6E10

MYLGLSCVFIVFLKGVQCEVKLDETGGGLVQGRPMKLSCVASGFTFSDYWMNW
VRQSPEKGLEWVGQIRNKPYNKYETYSYSDSVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNNLRTEDT
GIYYCTSLRYWGQGLTVTVSAAKTPPSVYPVAPGSL

SEQ ID NO:13 sequência de ADN para a região variável de cadeia leve do anticorpo 6E10

ATGGTCCTCATGTCCTTGCTGTTCTGGGTATCTGGTACCTGTGGGGACATTGTGAT
GACACAGTCTCCATCCTCCCTGACTGTGACAGCAGGAGAGAAGGTCCTATGAG
CTGCAAGTCCAGTCACAGTCTGTAAACAGTGGAATTCAAAAGAACTTCTTGACC
TGGTATCAACAGAAACCAGGGCAGCCTCCTAAAGTATTGATCTACTGGGCATTCA
CTAGGGAATCTGGGGTCCCTGAACGCTTACAGGCAGTGGATCTGGAACAGATTT
CACTCTACCATCAGTAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAG
AGTGATTATACTTATCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAAC
GGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCCAGTAAGCTTGGGG

SEQ ID NO:14 sequência de aminoácidos para a região variável de cadeia leve do anticorpo 6E10

MVLMSLLFWVSGTCGDIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSHLLNSGIQKNFLTW
YQKPGQPPKVLIIYWAFTRESGVPERFTGSGSGTDFLTISVQAEDLAVYYCQSDY
TYPFTFGSGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSKLG

SEQ ID NO:15 sequência de ADN para a região variável de cadeia pesada do anticorpo 11G8

ATGGAGTTGGGGTTAAACTGGGTTTTCTTGTCTTGTTTTAAAAGGTGTCCAGTG
TGAAGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTGGTCCAGCCTGGAGGGTCCCT
GAACTCTCCTGTGCAACCTCTGGATTCACTTTCAGTGACTATTACATGTTTTGGG
TTCGCCAGACTCCAGAGAAGAGGCTGGAGTGGGTTCGCATACATTACTAATGGGG
GTGATAGAAGTTATTATTTCAGACACTGTAACGGGCCGATTCATCATCTCCAGAGA
CAATGCCAAGAACACCCTGTATCTGCAAAATGAGCCGTCTGAAGTCTGAGGACAC
AGCCATGTATTACTGTGCAAGACAAGGGAAGTGGGCCGCCTGGTTTGTATTATTGG
GGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTTTCTGCAGCCAAAACGACACCCCCATCCGTTT
ATCCCTTGGCCCCTGGAAGCTTGG

SEQ ID NO:16 sequência de aminoácidos para a região variável de cadeia pesada do anticorpo 11G8

MELGLNWVFLVLVLKGVQCEVKLVESGGDLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDYYMFW
VRQTPEKRLEWVAYITNGGDRSYYS DTVTGRFIISRDNAKNTLYLQMSRLKSEDTAM
YYCARQGNWAAWFVYWGQGLVTVSAAKTPPSVYPLAPGSL

SEQ ID NO:17 sequência de ADN para a região variável de cadeia leve do anticorpo 11G8

ATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCTGATGTTCTGGATTCTGCTTCCACCAG
TGATGTTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAA
GCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCACTATATTGTACATAGTGACGGAAACACCT
ATTTAGAGTGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAA
AGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGG
ACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAATTTAT
TACTGCTTTCAAGGTTACATGTTCCGCTCACGTTCCGGTGCTGGGACCAAGCTGG
AGCTGAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCCAGTAA
GCTTGGG

SEQ ID NO:18 sequência de aminoácidos para a região variável de cadeia leve do anticorpo 11G8

MKLPVRLLVLMFWIPASTSDVLMQTPLSLPVS LGDQASISCRSSHYIVHSDGNTYLE
WYLOKPGQSPKLLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGIYYCFQGS
HVPLTFGAGTKLELKRADAAPT VSI FPPSSKLG

LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

<110> Howard, Maureen Schall, Thomas ChemoCentryx, Inc.

<120> Reagentes que ligam CCX-CKR2

<130> 019934-005610PC

<140> Ainda não atribuído

<141> Ainda não atribuído

<150> US 60/674 140

<151> 2005-04-21

<160> 23

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 1089

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> ADNc de CCX-CKR2 (RDC1) de receptor acoplado a proteína G (GPCR)

<400> 1

```

atggatctgc atctcttcga ctactcagag ccaggggaact tctcggacat cagctggcca 60
tgcaacagca gcgactgcat cgtggtggac acggtgatgt gtcccaacat gccaacaaa 120
agcgtcctgc tctacacgct ctcccttcatt tacatthttca tcttcgtcat cggcatgatt 180
gccaactccg tgggtggtctg ggtgaatatc caggccaaga ccacaggcta tgacacgcac 240
tgctacatct tgaacctggc cattgccgac ctgtgggttg tcctcaccat ccagctctgg 300
gtggtcagtc tcgtgcagca caaccagtgg cccatgggcg agctcacgtg caaagtcaca 360
cacctcatct tctccatcaa cctcttcggc agcatthttct tcctcacgtg catgagcgtg 420
gaccgctacc tctccatcac ctacttcacc aacacccccca gcagcaggaa gaagatggta 480
cgccgtgtcg tctgcatcct ggtgtggtcg ctggccttct gcgtgtctct gcctgacacc 540
tactacctga agaccgtcac gtctgcgtcc aacaatgaga cctactgccg gtccttctac 600
cccagacaca gcatcaagga gtggtgatc ggcatggagc tggctctccgt tgtcttgggc 660
tttgccgttc ccttctccat tatcgtgtgc ttctacttcc tgctggccag agccatctcg 720
gcgtccagtg accaggagaa gcacagcagc cggaagatca tcttctccta cgtggtggtc 780
ttccttgtct gctggctgcc ctaccacgtg gcggtgctgc tggacatctt ctccatcctg 840
cactacatcc ctttcacctg ccggctggag cagcgcctct tcacggccct gcatgtcaca 900
cagtgcctgt cgctggtgca ctgctgcgtc aacccctgtc tctacagctt catcaatcgc 960
aactacaggt acgagctgat gaaggccttc atcttcaagt actcggccaa aacagggctc 1020
accaagctca tcgatgcctc cagagtctca gagacggagt actctgcctt ggagcagagc 1080
accaaata 1089

```

<210> 2

<211> 362

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CCX-CKR2 (RDC1) de receptor acoplado a proteína G (GPCR)

<400> 2

```

Met Asp Leu His Leu Phe Asp Tyr Ser Glu Pro Gly Asn Phe Ser Asp
 1           5           10           15

Ile Ser Trp Pro Cys Asn Ser Ser Asp Cys Ile Val Val Asp Thr Val
          20           25           30

Met Cys Pro Asn Met Pro Asn Lys Ser Val Leu Leu Tyr Thr Leu Ser
          35           40           45

Phe Ile Tyr Ile Phe Ile Phe Val Ile Gly Met Ile Ala Asn Ser Val
          50           55           60

Val Val Trp Val Asn Ile Gln Ala Lys Thr Thr Gly Tyr Asp Thr His
          65           70           75           80

Cys Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Ile Ala Asp Leu Trp Val Val Leu Thr
          85           90           95

Ile Pro Val Trp Val Val Ser Leu Val Gln His Asn Gln Trp Pro Met
          100          105          110

Gly Glu Leu Thr Cys Lys Val Thr His Leu Ile Phe Ser Ile Asn Leu
          115          120          125

Phe Gly Ser Ile Phe Phe Leu Thr Cys Met Ser Val Asp Arg Tyr Leu
          130          135          140

Ser Ile Thr Tyr Phe Thr Asn Thr Pro Ser Ser Arg Lys Lys Met Val
          145          150          155          160

Arg Arg Val Val Cys Ile Leu Val Trp Leu Leu Ala Phe Cys Val Ser
          165          170          175

Leu Pro Asp Thr Tyr Tyr Leu Lys Thr Val Thr Ser Ala Ser Asn Asn
          180          185          190

Glu Thr Tyr Cys Arg Ser Phe Tyr Pro Glu His Ser Ile Lys Glu Trp
          195          200          205

Leu Ile Gly Met Glu Leu Val Ser Val Val Leu Gly Phe Ala Val Pro
          210          215          220

Phe Ser Ile Ile Ala Val Phe Tyr Phe Leu Leu Ala Arg Ala Ile Ser
          225          230          235          240

Ala Ser Ser Asp Gln Glu Lys His Ser Ser Arg Lys Ile Ile Phe Ser
          245          250          255

Tyr Val Val Val Phe Leu Val Cys Trp Leu Pro Tyr His Val Ala Val
          260          265          270

Leu Leu Asp Ile Phe Ser Ile Leu His Tyr Ile Pro Phe Thr Cys Arg
          275          280          285

Leu Glu His Ala Leu Phe Thr Ala Leu His Val Thr Gln Cys Leu Ser
          290          295          300

Leu Val His Cys Cys Val Asn Pro Val Leu Tyr Ser Phe Ile Asn Arg
          305          310          315          320

Asn Tyr Arg Tyr Glu Leu Met Lys Ala Phe Ile Phe Lys Tyr Ser Ala
          325          330          335

Lys Thr Gly Leu Thr Lys Leu Ile Asp Ala Ser Arg Val Ser Glu Thr
          340          345          350

Glu Tyr Ser Ala Leu Glu Gln Ser Thr Lys
          355          360

```

<210> 3
 <211> 1089
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> sequência de codificação CCX-CKR2.2 de receptor
 acoplado a proteína G (GPCR)

<400> 3
 atggatctgc acctcttcga ctacgccgag ccaggcaact tctcggacat cagctggcca 60
 tgcaacagca gcgactgcat cgtggtggac acggtgatgt gtcccaacat gcccaacaaa 120
 agcgtcctgc tctacacgct ctccttcatt tacatthtca tcttcgtcat cggcatgatt 180
 gccaaactccg tgggtggtctg ggtgaatatc caggccaaga ccacaggcta tgacacgcac 240
 tgctacatct tgaacctggc cattgccgac ctgtgggttg tcttcacat cccagtctgg 300
 gtggtcagtc tcgtgcagca caaccagtgg cccatgggag agctcacgtg caaagtcaca 360
 caccatcatc tctccatcaa cctcttcagc ggcattttct tcttcacgtg catgagcgtg 420
 gaccgtctacc tctccatcac ctacttcacc aacacccccca gcagcaggaa gaagatggta 480
 cgccgtgtcg tctgcatcct ggtgtggctg ctggccttct gcgtgtctct gcctgacacc 540
 tactacctga agaccgtcac gtctgcgtcc aacaatgaga cctactgccg gtccctctac 600
 cccgagcaca gcatcaagga gtggctgatc ggcatggagc tgggtctccgt tgtcttgggc 660
 tttgccgttc ccttctccat tatcgctgtc ttctacttcc tgctggccag agccatctcg 720
 gcgtccagtg accaggagaa gcacagcagc cggaagatca tcttctccta cgtggtgggc 780
 ttctctgtct gctggctgcc ctaccacgtg gcggtgctgc tggacatctt ctccatcctg 840
 cactacatcc ctttcacctg ccggctggag cagcctctct tcacggcctt gcatgtcaca 900
 cagtgcctgt cgctgggtgca ctgctgcgtc aaccctgtcc tctacagctt catcaatcgc 960
 aactacaggt acgagctgat gaaggccttc atcttcaagt actcggccaa aacaggggtc 1020
 accaagctca tcgatgcctc cagagtgtcg gagacggagt actccgcctt ggagcaaaac 1080
 gccaaagtga 1089

<210> 4
 <211> 362
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> CCX-CKR2.2 de receptor acoplado a proteína G (GPCR)

<400> 4
 Met Asp Leu His Leu Phe Asp Tyr Ala Glu Pro Gly Asn Phe Ser Asp
 1 5 10 15
 Ile Ser Trp Pro Cys Asn Ser Ser Asp Cys Ile Val Val Asp Thr Val
 20 25 30
 Met Cys Pro Asn Met Pro Asn Lys Ser Val Leu Leu Tyr Thr Leu Ser
 35 40 45
 Phe Ile Tyr Ile Phe Ile Phe Val Ile Gly Met Ile Ala Asn Ser Val
 50 55 60

Val Val Trp Val Asn Ile Gln Ala Lys Thr Thr Gly Tyr Asp Thr His
 65 70 75 80
 Cys Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Ile Ala Asp Leu Trp Val Val Leu Thr
 85 90 95
 Ile Pro Val Trp Val Val Ser Leu Val Gln His Asn Gln Trp Pro Met
 100 105 110
 Gly Glu Leu Thr Cys Lys Val Thr His Leu Ile Phe Ser Ile Asn Leu
 115 120 125
 Phe Ser Gly Ile Phe Phe Leu Thr Cys Met Ser Val Asp Arg Tyr Leu
 130 135 140
 Ser Ile Thr Tyr Phe Thr Asn Thr Pro Ser Ser Arg Lys Lys Met Val
 145 150 155 160
 Arg Arg Val Val Cys Ile Leu Val Trp Leu Leu Ala Phe Cys Val Ser
 165 170 175
 Leu Pro Asp Thr Tyr Tyr Leu Lys Thr Val Thr Ser Ala Ser Asn Asn
 180 185 190
 Glu Thr Tyr Cys Arg Ser Phe Tyr Pro Glu His Ser Ile Lys Glu Trp
 195 200 205
 Leu Ile Gly Met Glu Leu Val Ser Val Val Leu Gly Phe Ala Val Pro
 210 215 220
 Phe Ser Ile Ile Ala Val Phe Tyr Phe Leu Leu Ala Arg Ala Ile Ser
 225 230 235 240
 Ala Ser Ser Asp Gln Glu Lys His Ser Ser Arg Lys Ile Ile Phe Ser
 245 250 255
 Tyr Val Val Val Phe Leu Val Cys Trp Leu Pro Tyr His Val Ala Val
 260 265 270
 Leu Leu Asp Ile Phe Ser Ile Leu His Tyr Ile Pro Phe Thr Cys Arg
 275 280 285
 Leu Glu His Ala Leu Phe Thr Ala Leu His Val Thr Gln Cys Leu Ser
 290 295 300
 Leu Val His Cys Cys Val Asn Pro Val Leu Tyr Ser Phe Ile Asn Arg
 305 310 315 320
 Asn Tyr Arg Tyr Glu Leu Met Lys Ala Phe Ile Phe Lys Tyr Ser Ala
 325 330 335
 Lys Thr Gly Leu Thr Lys Leu Ile Asp Ala Ser Arg Val Ser Glu Thr
 340 345 350
 Glu Tyr Ser Ala Leu Glu Gln Asn Ala Lys
 355 360

<210> 5

<211> 1089

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> sequência de codificação CCX-CKR2.3 de receptor
 acoplado a proteína G (GPCR)

<400> 5

```

atggatctgc atctcttcga ctactcagag ccaggggaact tctcggacat cagctggcca 60
tgcaacagca ggcactgcat cgtgggtggac acgggtgatgt gtcccaacat gcccaacaaa 120
agcgtcctgc tctacacgct ctcttcatt tacattttca tcttcgtcat cggcatgatt 180
gccaaactcg tgggtggtctg ggtgaatata caggccaaga ccacaggcta tgacacgcac 240
tgctacatct tgaacctggc cattgccgac ctgtgggttg tcctcaccat cccagtctgg 300
gtggtcagtc tcgtgcagca caaccagtgg cccatgggag agctcacgtg caaagtcaca 360
cacctcatct tctccatcaa cctcttcggc agcattttct tcctcacgtg catgagcgtg 420
gaccgctacc tctccatcac ctacttcacc aacaccccca gcagcaggaa gaagatggta 480
cgccgtgtcg tctgcatcct ggtgtggctg ctggccttct gcgtgtctct gcctgacacc 540
tactacctga agaccgtcac gtctgcgtcc aacaatgaga cctactgccg gtccttctac 600
cccagacaca gcatcaagga gtggctgata ggcatggagc tggctctccg tgtcttgggc 660
tttgccgttc ccttctccat tgcgctgtc ttctacttcc tgcgtggccag agccatctcg 720
gcgtccagtg accaggagaa gcacagcagc cggaagatca tcttctccta cgtgggtggtc 780
ttccttgtct gctgggtgcc ctaccacgtg gcggtgtctg tggacatctt ctccatctcg 840
cactacatcc ctttcacctg ccggtgggag caccgccctt tcacggccct gcatgtcaca 900
cagtgcctgt cgctgggtgca ctgctgcgtc aacctgtccc tctacagctt catcaatcgc 960
aactacaggt acgagctgat gaaggccttc atcttcaagt actcggccaa aacagggttc 1020
accaagctca tcgatgcctc cagagtctca gagacggagt actctgcctt ggagcagagc 1080
accaaata 1089

```

<210> 6

<211> 362

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CCX-CKR2.3 de receptor acoplado a proteína G (GPCR)

<400> 6

```

Met Asp Leu His Leu Phe Asp Tyr Ser Glu Pro Gly Asn Phe Ser Asp
  1             5             10             15

Ile Ser Trp Pro Cys Asn Ser Ser Asp Cys Ile Val Val Asp Thr Val
  20             25             30

Met Cys Pro Asn Met Pro Asn Lys Ser Val Leu Leu Tyr Thr Leu Ser
  35             40             45

Phe Ile Tyr Ile Phe Ile Phe Val Ile Gly Met Ile Ala Asn Ser Val
  50             55             60

Val Val Trp Val Asn Ile Gln Ala Lys Thr Thr Gly Tyr Asp Thr His
  65             70             75             80

Cys Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Ile Ala Asp Leu Trp Val Val Leu Thr
  85             90             95

Ile Pro Val Trp Val Val Ser Leu Val Gln His Asn Gln Trp Pro Met
 100             105             110

```

Gly Glu Leu Thr Cys Lys Val Thr His Leu Ile Phe Ser Ile Asn Leu
 115 120 125
 Phe Gly Ser Ile Phe Phe Leu Thr Cys Met Ser Val Asp Arg Tyr Leu
 130 135 140
 Ser Ile Thr Tyr Phe Thr Asn Thr Pro Ser Ser Arg Lys Lys Met Val
 145 150 155 160
 Arg Arg Val Val Cys Ile Leu Val Trp Leu Leu Ala Phe Cys Val Ser
 165 170 175
 Leu Pro Asp Thr Tyr Tyr Leu Lys Thr Val Thr Ser Ala Ser Asn Asn
 180 185 190
 Glu Thr Tyr Cys Arg Ser Phe Tyr Pro Glu His Ser Ile Lys Glu Trp
 195 200 205
 Leu Ile Gly Met Glu Leu Val Ser Val Val Leu Gly Phe Ala Val Pro
 210 215 220
 Phe Ser Ile Val Ala Val Phe Tyr Phe Leu Leu Ala Arg Ala Ile Ser
 225 230 235 240
 Ala Ser Ser Asp Gln Glu Lys His Ser Ser Arg Lys Ile Ile Phe Ser
 245 250 255
 Tyr Val Val Val Phe Leu Val Cys Trp Leu Pro Tyr His Val Ala Val
 260 265 270
 Leu Leu Asp Ile Phe Ser Ile Leu His Tyr Ile Pro Phe Thr Cys Arg
 275 280 285
 Leu Glu His Ala Leu Phe Thr Ala Leu His Val Thr Gln Cys Leu Ser
 290 295 300
 Leu Val His Cys Cys Val Asn Pro Val Leu Tyr Ser Phe Ile Asn Arg
 305 310 315 320
 Asn Tyr Arg Tyr Glu Leu Met Lys Ala Phe Ile Phe Lys Tyr Ser Ala
 325 330 335
 Lys Thr Gly Leu Thr Lys Leu Ile Asp Ala Ser Arg Val Ser Glu Thr
 340 345 350
 Glu Tyr Ser Ala Leu Glu Gln Ser Thr Lys
 355 360

<210> 7

<211> 1089

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> sequência de codificação CCX-CKR2.4 de receptor
 acoplado a proteína G (GPCR)

<400> 7

atggatctgc atctcttcga ctactcagag ccaggggaact tctcggacat cagctggcca 60
 tgcaacagca gcgactgcat cgtggtggac acggtgatgt gtccaacat gcccaacaaa 120

```

agcgctcctgc tctacacgct ctccttcatt tacattttca tcttcgtcat cggcatgatt 180
gccaactccg tgggtggtctg ggtgaatata caggccaaga ccacaggcta tgacacgcac 240
tgctacatct tgaacctggc cattgccgac ctgtgggttg tcttcacat cccagtctgg 300
gtgggtcagtc tcgtgcagca caaccagtgg cccatgggcg agtcacgtg caaagtcaca 360
cacctcatct tctccatcaa cctcttcggc agcatittct tcttcacgtg catgagcgtg 420
gaccgctacc tctccatcac ctacttcacc aacacccccca gcagcaggaa gaagatggta 480
cgcgctgtcg tctgcatcct ggtgtggtcg ctggccttct gcgtgtctct gctgacacc 540
tactacctga agaccgtcac gtctgcgtcc aacaatgaga cctactgccg gtccttctac 600
cccgagcaca gcatcaagga gtggctgata ggcatggagc tgggtctcgt tgtcttgggc 660
tttgccgttc ccttctccat tatcgctgtc ttctacttcc tgctggccag agccatctcg 720
gcgtccagtg accaggagaa gcacagcagc cggaagatca tcttctccta cgtggtggtc 780
ttccttgtct gctgggtgcc ctaccacgtg gcggtgctgc tggacatctt ctccatcctg 840
cactacatcc ctttcacctg ccggctggag cagccctctt tcacggccct gcatgtcaca 900
cagtgctctg cgctgggtga ctgctgcgtc aaccctgtcc tctacagctt catcaatcgc 960
aactacaggt acgagctgat gaaggccttc atcttcaagt actcggccaa aacagggctc 1020
accaagctca tcgatgcctc cagagtctca gagacggagt actctgcctt ggagcagagc 1080
accaaataga                                     1089

```

<210> 8

<211> 362

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CCX-CKR2.4 de receptor acoplado a proteína G (GPCR)

<400> 8

```

Met Asp Leu His Leu Phe Asp Tyr Ser Glu Pro Gly Asn Phe Ser Asp
 1             5             10             15

Ile Ser Trp Pro Cys Asn Ser Ser Asp Cys Ile Val Val Asp Thr Val
 20             25             30

Met Cys Pro Asn Met Pro Asn Lys Ser Val Leu Leu Tyr Thr Leu Ser
 35             40             45

Phe Ile Tyr Ile Phe Ile Phe Val Ile Gly Met Ile Ala Asn Ser Val
 50             55             60

Val Val Trp Val Asn Ile Gln Ala Lys Thr Thr Gly Tyr Asp Thr His
 65             70             75             80

Cys Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Ile Ala Asp Leu Trp Val Val Leu Thr
 85             90             95

Ile Pro Val Trp Val Val Ser Leu Val Gln His Asn Gln Trp Pro Met
100             105             110

Gly Glu Leu Thr Cys Lys Val Thr His Leu Ile Phe Ser Ile Asn Leu
115             120             125

Phe Gly Ser Ile Phe Phe Leu Thr Cys Met Ser Val Asp Arg Tyr Leu
130             135             140

Ser Ile Thr Tyr Phe Thr Asn Thr Pro Ser Ser Arg Lys Lys Met Val
145             150             155             160

Arg Arg Val Val Cys Ile Leu Val Trp Leu Leu Ala Phe Cys Val Ser
165             170             175

```

Leu Pro Asp Thr Tyr Tyr Leu Lys Thr Val Thr Ser Ala Ser Asn Asn
 180 185 190
 Glu Thr Tyr Cys Arg Ser Phe Tyr Pro Glu His Ser Ile Lys Glu Trp
 195 200 205
 Leu Ile Gly Met Glu Leu Val Ser Val Val Leu Gly Phe Ala Val Pro
 210 215 220
 Phe Ser Ile Ile Ala Val Phe Tyr Phe Leu Leu Ala Arg Ala Ile Ser
 225 230 235 240
 Ala Ser Ser Asp Gln Glu Lys His Ser Ser Arg Lys Ile Ile Phe Ser
 245 250 255
 Tyr Val Val Val Phe Leu Val Cys Trp Leu Pro Tyr His Val Ala Val
 260 265 270
 Leu Leu Asp Ile Phe Ser Ile Leu His Tyr Ile Pro Phe Thr Cys Arg
 275 280 285
 Leu Glu His Ala Leu Phe Thr Ala Leu His Val Thr Gln Cys Leu Ser
 290 295 300
 Leu Val His Cys Cys Val Asn Pro Val Leu Tyr Ser Phe Ile Asn Arg
 305 310 315 320
 Asn Tyr Arg Tyr Glu Leu Met Lys Ala Phe Ile Phe Lys Tyr Ser Ala
 325 330 335
 Lys Thr Gly Leu Thr Lys Leu Ile Asp Ala Ser Arg Val Ser Glu Thr
 340 345 350
 Glu Tyr Ser Ala Leu Glu Gln Ser Thr Lys
 355 360

<210> 9

<211> 1089

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> sequência de codificação CCX-CKR2.5 de receptor
 acoplado a proteína G (GPCR)

<400> 9

atggatctgc atctcttcga ctactcagag ccagggaact tctcggacat cagctggccg 60
 tgcaacagca gcgactgcat cgtggtggac acggtgatgt gtcccaacat gcccaacaaa 120
 agcgtcctgc tctacacgct ctccttcatt tacattttca tcttcgtcat cggcatgatt 180
 gccaaactccg tgggtggtctg ggtgaatata caggccaaga ccacaggcta tgacacgcac 240
 tgctacatct tgaacctggc cattgccgac ctgtgggttg tctcaccat cccagtctgg 300
 gtggtcagtc tcgtgcagca caaccagtgg cccatgggag agctcacgtg caaagtcaca 360
 cacctcatct tctccatcaa cctcttcagc agcattttct tctcacgtg catgagcgtg 420
 gaccgctacc tctccatcac ctacttcacc aacaccccca gcagcaggaa gaagatggta 480
 cgccgtgtcg tctgcatcct ggtgtggtcg ctggccttct gcgtgtctct gcctgacacc 540
 tactactga agaccgtcac gtctgcgtcc aacaatgaga cctactgccg gtccttctac 600
 ccgagcaca gcatcaagga gtggctgata ggcatggagc tgggtctccg tgtcttgggc 660
 tttgcggttc ccttctccat tatcgctgtc ttctacttcc tgctggccag agccatctcg 720
 gcgtccagtg accaggagaa gcacagcagc cggaagatca tcttctccta cgtggtgggc 780
 ttccttgtct gctggttgcc ctaccacgtg gcggtgctgc tggacatctt ctccatcctg 840

```

cactacatcc ctttcacctg ccggtctggag cagccctctt tcacggccct gcatgtcaca 900
cagtgcctgt cgctgggtgca ctgctgcgtc aacctgttcc tctacagctt catcaatcgc 960
aactacaggt acgagctgat gaaggccttc atcttcaagt actcggccaa aacagggctc 1020
accaagctca tcgatgcctc cagagtctca gagacggagt actccgcctt ggagcagagc 1080
accaaataga                                     1089

```

<210> 10

<211> 362

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CCX-CKR2.5 de receptor acoplado a proteína G (GPCR)

<400> 10

```

Met Asp Leu His Leu Phe Asp Tyr Ser Glu Pro Gly Asn Phe Ser Asp
 1           5           10           15

Ile Ser Trp Pro Cys Asn Ser Ser Asp Cys Ile Val Val Asp Thr Val
      20           25           30

Met Cys Pro Asn Met Pro Asn Lys Ser Val Leu Leu Tyr Thr Leu Ser
      35           40           45

Phe Ile Tyr Ile Phe Ile Phe Val Ile Gly Met Ile Ala Asn Ser Val
      50           55           60

Val Val Trp Val Asn Ile Gln Ala Lys Thr Thr Gly Tyr Asp Thr His
      65           70           75           80

Cys Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Ile Ala Asp Leu Trp Val Val Leu Thr
      85           90           95

Ile Pro Val Trp Val Val Ser Leu Val Gln His Asn Gln Trp Pro Met
      100          105          110

Gly Glu Leu Thr Cys Lys Val Thr His Leu Ile Phe Ser Ile Asn Leu
      115          120          125

Phe Ser Ser Ile Phe Phe Leu Thr Cys Met Ser Val Asp Arg Tyr Leu
      130          135          140

Ser Ile Thr Tyr Phe Thr Asn Thr Pro Ser Ser Arg Lys Lys Met Val
      145          150          155          160

Arg Arg Val Val Cys Ile Leu Val Trp Leu Leu Ala Phe Cys Val Ser
      165          170          175

Leu Pro Asp Thr Tyr Tyr Leu Lys Thr Val Thr Ser Ala Ser Asn Asn
      180          185          190

Glu Thr Tyr Cys Arg Ser Phe Tyr Pro Glu His Ser Ile Lys Glu Trp
      195          200          205

Leu Ile Gly Met Glu Leu Val Ser Val Val Leu Gly Phe Ala Val Pro
      210          215          220

Phe Ser Ile Ile Ala Val Phe Tyr Phe Leu Leu Ala Arg Ala Ile Ser
      225          230          235          240

```

Ala	Ser	Ser	Asp	Gln	Glu	Lys	His	Ser	Ser	Arg	Lys	Ile	Ile	Phe	Ser
			245						250					255	
Tyr	Val	Val	Val	Phe	Leu	Val	Cys	Trp	Leu	Pro	Tyr	His	Val	Ala	Val
			260					265					270		
Leu	Leu	Asp	Ile	Phe	Ser	Ile	Leu	His	Tyr	Ile	Pro	Phe	Thr	Cys	Arg
		275					280					285			
Leu	Glu	His	Ala	Leu	Phe	Thr	Ala	Leu	His	Val	Thr	Gln	Cys	Leu	Ser
	290					295					300				
Leu	Val	His	Cys	Cys	Val	Asn	Pro	Val	Leu	Tyr	Ser	Phe	Ile	Asn	Arg
305					310					315					320
Asn	Tyr	Arg	Tyr	Glu	Leu	Met	Lys	Ala	Phe	Ile	Phe	Lys	Tyr	Ser	Ala
			325						330					335	
Lys	Thr	Gly	Leu	Thr	Lys	Leu	Ile	Asp	Ala	Ser	Arg	Val	Ser	Glu	Thr
		340						345					350		
Glu	Tyr	Ser	Ala	Leu	Glu	Gln	Ser	Thr	Lys						
	355						360								

 $\langle 210 \rangle$ 11

<211> 449

<212> ADN

<213> Mus sp.

 $\langle 220 \rangle$

<223> região variável de cadeia pesada do anticorpo monoclonal 6E10 de ratinho

<400> 11

atgtacttgg	gactgagctg	tgtattcatt	gtttttctct	taaaagggtg	ccagtgtag	60
gtgaagctg	atgagactgg	aggagagctg	gtgcaacctg	ggaggcccat	gaaactctcc	120
tgtgtgctct	ctggattcac	ttttagtgc	tactggatga	actgggtccg	ccagctctca	180
gaaaaaggac	tggagtggtg	aggacaatt	agaacaacac	cttataatta	tgaacacata	240
tattcagatt	ctgtgaaagg	cagattcacc	atctcaagag	atgattccaa	aagtagtgtc	300
tacctgcaa	tgaacaactt	aagaactgaa	gacacgggta	tctactactg	tacatcctta	360
cgttactggg	gccaaaggac	tctggtcact	gtctctgcag	ccaaaacgac	acccccatcc	420
gtgtatctctg	tggccctcgg	aaqcttqqq				449

 $\langle 210 \rangle$ 12

<211> 149

<212> PRT

<213> Mus sp.

 $\langle 220 \rangle$

<223> região variável de cadeia pesada do anticorpo monoclonal 6E10 de ratinho

$\langle 400 \rangle$ 12

Met Tyr Leu Gly Leu Ser Cys Val Phe Ile Val Phe Leu Leu Lys Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys Glu Val Lys Leu Asp Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

[illegible]

<210> 13

<211> 439

<212> ADN

<213> Mus sp.

 $\langle 220 \rangle$

<223> região variável de cadeia leve do anticorpo monoclonal 6E10 de ratinho

<400> 13

atggctcctca	tgtccttgtct	gttctcgggta	tcttggtacct	gtggggacat	tgtgatgaca	60
cagtcctccat	cctccctgcag	tgtgacagca	ggagagaagg	tcactatgag	ctgcaagtaa	120
agtcacagtc	tgttaaacag	tggaaattcaa	aagaacttct	tgacctggta	tcaacagaaa	180
ccagggcgagc	ctcctaagaat	attgatctac	tgggcattca	ctagggaatc	tggggctccct	240
gaacgcttca	caggcagtg	atctggaaca	gatttcactc	tcaccatcag	tagtggtgcag	300
gctgaagacc	tggcagcttta	ttactgtcag	agtgattata	cttatccatt	cacgttcggc	360
tcggggagaca	agttggaat	aaaacgggct	gtgctgcac	caactgtatc	cattctccca	420
ccatccaata	agcttqqqq					439

<210> 14

$\langle 211 \rangle$ 146

<212> PRT

<213> Mus sp.

 $\langle 220 \rangle$

<223> região variável de cadeia leve do anticorpo monoclonal 6E10 de ratinho

<400> 14

Met Val Leu Met Ser Leu Leu Phe Trp Val Ser Gly Thr Cys Gly Asp
1 5 10 15

Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly Glu
20 25 30

```

Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser His Ser Leu Leu Asn Ser Gly
      35              40              45

Ile Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
      50              55              60

Pro Lys Val Leu Ile Tyr Trp Ala Phe Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro
      65              70              75              80

Glu Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
      85              90              95

Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Ser Asp
      100             105             110

Tyr Thr Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
      115             120             125

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Lys
      130             135             140

Leu Gly
145

```

<210> 15
 <211> 463
 <212> ADN
 <213> Mus sp.

<220>
 <223> região variável de cadeia pesada do anticorpo monoclonal 11G8 de ratinho

```

<400> 15
atggagttgg ggttaaactg ggttttcctt gtccttggtt taaaagggtg ccagtgtgaa 60
gtgaagctgg tggagtctgg gggagacttg gtccagcctg gaggggccct gaaactctcc 120
tgtgcaacct ctggattcac tttcagtgac tattacatgt tttgggttcg ccagactcca 180
gagaagaggg tggagtgggt cgcatacatt actaatgggg gtgatagaag ttattattca 240
gacactgtaa cgggccgatt catcatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtatctg 300
caaatgagcc gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acaagggaac 360
tgggccgcct ggtttggtta ttggggccaa gggactctgg tcactgtttc tgcagccaaa 420
acgacacccc catccgttta tcccttggtc cctggaagct tgg 463

```

<210> 16
 <211> 154
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

<220>
 <223> região variável de cadeia pesada do anticorpo monoclonal 11G8 de ratinho

```

<400> 16
Met Glu Leu Gly Leu Asn Trp Val Phe Leu Val Leu Val Leu Lys Gly
      1              5              10              15

Val Gln Cys Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln
      20              25              30

```

[illegible]

<210> 17

<211> 447

<212> ADN

<213> Mus sp.

 $\langle 220 \rangle$

<223> região variável de cadeia leve do anticorpo monoclonal 11G8 de ratinho

<400> 17

atgaagttgc	ctgttaggct	gttggtgctg	atgttctgga	tccctgcttc	caccagtgat	60
gttttgatga	cccaaacctc	actctccctg	cctgtcagtc	ttggagatca	agcctccatc	120
ctcttcgat	ctagtacta	tattgtacat	agtgacggga	acacctattt	agagtggtac	180
cctcagaaac	caggccagtc	tccaaagctc	ctgatctaca	aagtttccaa	ccgattttct	240
ggggctcccag	acagggttcag	tggcagtgga	tcaggggacag	atttcacact	caagatcagc	300
agaagtgagg	ctgaggatca	gggaatttat	tactgctttc	aaggttcaca	tgttccgctc	360
acgttcggtg	ctggggacca	gctggagctg	aaacgggctg	atgctgcacc	aactgtatcc	420
atcttcccac	catccagtaa	gcttggg				447

<210> 18

<211> 149

<212> PRT

<213> Mus sp.

 $\langle 220 \rangle$

<223> região variável de cadeia leve do anticorpo monoclonal 11G8 de ratinho

<400> 18

Met	Lys	Leu	Pro	Val	Arg	Leu	Leu	Val	Leu	Met	Phe	Trp	Ile	Pro	Ala
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Asp	Val	Leu	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val
			20					25					30		

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

<210> 19

<211> 99

<212> PRT

<213> Mus sp.

<220>

<223> regiões de esqueleto 1, 2 e 3 e regiões determinantes de complementaridade 1 e 2 da região variável de cadeia pesada do anticorpo monoclonal 6E10 de ratinho

<220>

<221> PÉPTIDO

<222> (1) .. (30)

<223> região de esqueleto 1 (FR1)

<220>

<221> PÉPTIDO

<222> (31) .. (35)

<223> região determinante de complementaridade 1 (CDR1)

<220>

<221> PÉPTIDO

<222> (36) .. (49)

<223> região de esqueleto 2 (FR2)

<220>

<221> PÉPTIDO

<222> (50) .. (68)

<223> região determinante de complementaridade 2 (CDR2)

<220>

<221> PÉPTIDO

<222> (69) .. (99)

<223> região de esqueleto 3 (FR3)

<400> 19

Glu Val Lys Leu Asp Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Pro Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Gln Ile Arg Asn Lys Pro Tyr Asn Tyr Glu Thr Tyr Tyr Ser Asp
50 55 60

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

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr

<210> 20

<211> 101

<212> PRT

<213> Mus sp.

<220>

<223> regiões de esqueleto 1, 2 e 3 e regiões determinantes de complementaridade 1 e 2 da região variável de cadeia leve do anticorpo monoclonal 6E10 de ratinho

<220>

<221> PÉPTIDO

<222> (1) .. (23)

<223> região de esqueleto 1 (FR1)

<220>

<221> PÉPTIDO

<222> (24) .. (40)

<223> região determinante de complementaridade 1 (CDR1)

<220>

<221> PÉPTIDO

<222> (41) .. (55)

<223> região de esqueleto 2 (FR2)

<220>

<221> PÉPTIDO

<222> (56) .. (62)

<223> região determinante de complementaridade 2 (CDR2)

<220>
 <221> PÉPTIDO
 <222> (63)..(94)
 <223> região de esqueleto 3 (FR3)

<400> 20
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser His Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30
 Gly Ile Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Pro Pro Lys Val Leu Ile Tyr Trp Ala Phe Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Glu Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Ser
 85 90 95
 Asp Tyr Thr Tyr Pro
 100

<210> 21
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

<220>
 <223> regiões de esqueleto 1, 2 e 3 e regiões determinantes de complementaridade 1 e 2 da região variável de cadeia pesada do anticorpo monoclonal 11G8 de ratinho

<220>
 <221> PÉPTIDO
 <222> (1)..(30)
 <223> região de esqueleto 1 (FR1)

<220>
 <221> PÉPTIDO
 <222> (31)..(35)
 <223> região determinante da complementaridade 1 (CDR1)

<220>
 <221> PÉPTIDO
 <222> (36)..(49)
 <223> região de esqueleto 2 (FR2)

<220>
 <221> PÉPTIDO
 <222> (50)..(66)
 <223> região determinante da complementaridade 2 (CDR2)

<220>

<221> PÉPTIDO

<222> (67) .. (98)

<223> região de esqueleto 3 (FR3)

<400> 21

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

Tyr Met Phe Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Tyr Ile Thr Asn Gly Gly Asp Arg Ser Tyr Tyr Ser Asp Thr Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg

<210> 22

<211> 100

<212> PRT

<213> Mus sp.

<220>

<223> regiões de esqueleto 1, 2 e 3 e regiões determinantes
 de complementaridade 1 e 2 da região variável de cadeia leve
 do anticorpo monoclonal 11G8 de ratinho

<220>

<221> PÉPTIDO

<222> (1)..(23)

<223> região de esqueleto 1 (FR1)

<220>

<221> PÉPTIDO

<222> (24) .. (39)

<223> região determinante da complementaridade 1 (CDR1)

<220>

<221> PÉPTIDO

<222> (40).. (54)

<223> região de esqueleto 2 (FR2)

<220>

<221> PÉPTIDO

<222> (55) .. (61)

<223> região determinante da complementaridade 2 (CDR2)

<220>

<221> PÉPTIDO

<222> (62)..(93)

<223> região de esqueleto 3 (FR3)

<400> 22

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

<210> 23

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Descrição da sequência artificial: ligante peptídico

<400> 23

Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
1				5

Lisboa, 2013-10-24

REIVINDICAÇÕES

1. Anticorpo que se liga a CCX-CKR2, compreendendo:
 - i) as regiões determinantes da complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:12 e as regiões determinantes da complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:14; ou
 - ii) as regiões determinantes da complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:16 e as regiões determinantes da complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:18.
2. Anticorpo da reivindicação 1, compreendendo as CDR de Kabat de SEQ ID NO:12 e as CDR de Kabat de SEQ ID NO:14.
3. Anticorpo da reivindicação 1 ou 2, compreendendo SEQ ID NO:12 e SEQ ID NO:14.
4. Anticorpo da reivindicação 1, compreendendo as CDR de Kabat de SEQ ID NO:16 e as CDR de Kabat de SEQ ID NO:18.
5. Anticorpo de reivindicação 1 ou 4, compreendendo SEQ ID NO:16 e SEQ ID NO:18.
6. Anticorpo de qualquer uma das reivindicações 1 a 5, em que o anticorpo está ligado a um marcador detectável.
7. Anticorpo de qualquer das reivindicações 1 a 6, em que o anticorpo é um anticorpo monoclonal.
8. Anticorpo de qualquer uma das reivindicações 1 a 7, em que o anticorpo é um anticorpo humanizado.
9. Método de detectar uma célula que expressa CCX-CKR2 numa amostra biológica, compreendendo o método por em contacto a amostra biológica com um anticorpo de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 8 e detectar a presença do anticorpo.
10. Método para identificar um modulador de CCX-CKR2, compreendendo:

- (a) combinar com um agente de ensaio
 - i) uma célula que expressa um polipéptido CCX-CKR2, em que a referida célula não é uma célula humana *in vivo*, ou
 - ii) um extracto de uma célula que expressa um polipéptido CCX-CKR2; e
 - (b) efectuar um ensaio para detectar se o agente de ensaio compete com um anticorpo competidor para ligação a um polipéptido CCX-CKR2, em que o anticorpo competidor é um anticorpo de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 8 e em que a competição entre o anticorpo competidor e o agente de ensaio para ligação ao polipéptido CCX-CKR2 é uma indicação de que o agente de ensaio é um modulador de actividade CCX-CKR2.
11. Método para ensaiar a eficácia de um agente de ensaio que modula actividade CCX-CKR2, compreendendo o método:
- (a) administrar um reagente de ensaio a um primeiro animal não humano;
 - (b) administrar a um segundo animal não humano um anticorpo de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 5; e
 - (c) comparar o efeito do reagente de ensaio no primeiro animal não humano com o efeito do anticorpo no segundo animal não humano, determinando assim a eficácia de um agente de ensaio.
12. Polinucleótido que codifica um anticorpo quimérico que se liga a CCX-CKR2, compreendendo o referido anticorpo quimérico:
- i) as regiões determinantes da complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:12 e as regiões determinantes da complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:14; ou
 - ii) as regiões determinantes da complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:16 e as regiões determinantes da complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:18.

13. Polinucleótido da reivindicação 12, em que o anticorpo compreende as CDR de Kabat de SEQ ID NO:12 e as CDR de Kabat de SEQ ID NO:14.
14. Polinucleótido da reivindicação 12, em que o anticorpo compreende as CDR de Kabat de SEQ ID NO:16 e as CDR de Kabat de SEQ ID NO:18.
15. Método de produzir um anticorpo de acordo com a reivindicação 1, em que o anticorpo é um anticorpo quimérico, compreendendo o método:

ligar operacionalmente polinucleótidos que codificam regiões determinantes da complementaridade (CDR) de Kabat de SEQ ID NO:12 e SEQ ID NO:14 ou SEQ ID NO:16 e SEQ ID NO:18 a polinucleótidos heterólogos que codificam pelo menos as regiões de esqueleto de uma cadeia pesada ou leve de um anticorpo, para formar polinucleótidos de fusão que codificam as cadeias pesada e leve de um anticorpo; e

expressar as cadeias pesada e leve dos polinucleótidos de fusão.

Lisboa, 2013-10-24

Figura 1

Para SEQ ID NO:12:

```

<-----FR1-----> <CDR1> <-----FR2-----> <-----CDR2-----> <-----FR3----->
1 EVKIDETGGGLVQGRPMKLSGVAGFTFS DYWMN WVRQSPKGLWVG QIRKPNYETIYSDSVKG RFTISRDSKSS VYLQMNRLTETGIYYCT- 99

```

Para SEQ ID NO:14:

```

<-----FR1-----> <-----CDR1-----> <-----FR2-----> <-----CDR2-----> <-----FR3----->
1 DIVMTQSPSSLVTAGEKVTWSC KSHSLNSGIQKNFLT WYQKPGQPKVLIY WAFTRFS GVPERFTSGSGGTDFTLTISVQAEDLAVYYC QSDYTP 101

```

Para SEQ ID NO:16

```

<-----FR1-----> <CDR1> <-----FR2-----> <-----CDR2-----> <-----FR3----->
1 EVKLVEGGDLVQPGGSLKLSCATSGFTFS DYVMF WVRQTEKRLWVA YITNGGDRSYSDITVG RFILSRDNAKNTILYLQMSRLKSEDTAMYYCAR 98

```

Para SEQ ID NO:18:

```

<-----FR1-----> <-----CDR1-----> <-----FR2-----> <-----CDR2-----> <-----FR3----->
1 DVLMTQTPLSLEVSLGDAQSISC RSSHYVESDGNLYLE WYQKPGQPKLIY KVSNRFS GVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDLIGYYC FQGSHVP 100

```