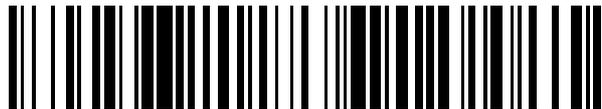


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 810 751**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/28** (2006.01)

**A61P 37/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.09.2016 PCT/US2016/052040**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.03.2017 WO17049024**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.09.2016 E 16774750 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2020 EP 3350223**

54 Título: **Anticuerpos que se unen específicamente a TL1A**

30 Prioridad:

**18.09.2015 US 201562220442 P**

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

**09.03.2021**

73 Titular/es:

**CEPHALON, INC. (100.0%)  
41 Moores Road  
Frazer, Pennsylvania 19355, US**

72 Inventor/es:

**POULTON, LYNN, DOROTHY;  
POLLARD, MATTHEW;  
DOYLE, ANTHONY, G.;  
COOKSEY, BRIDGET, ANN;  
PANDE, VANYA y  
CLARKE, ADAM, WILLIAM**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 810 751 T3

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

**DESCRIPCIÓN**

Anticuerpos que se unen específicamente a TL1A

5 Referencia a un listado de secuencias

La presente solicitud incluye un Listado de secuencias enviado electrónicamente como un archivo de texto llamado TL1A\_ST25, creado el 18 de septiembre de 2015 con un tamaño de 89.000 bytes. El listado de secuencias forma parte de la memoria descriptiva de la patente.

10

Campo de la invención

La presente divulgación se refiere en general al campo de la ingeniería de anticuerpos. De manera más específica, la presente divulgación se refiere a anticuerpos variantes que se unen específicamente a TL1A y que inhiben la interacción entre TL1A y el receptor de muerte 3 (DR3). En algunos aspectos, los anticuerpos también inhiben la interacción entre TL1A y el receptor señuelo 3 (DcR3). Los anticuerpos tienen potencia mejorada en relación con el anticuerpo original del que procedían las variantes.

15

Antecedentes de la invención

20

El ligando 1A de tipo TNF (TL1A, sin. miembro 15 de la superfamilia TNF (TNFSF15); TL1 y VEGI) es un miembro de la superfamilia de factores de necrosis tumoral, que es expresado por células presentadoras de antígenos (incluyendo células dendríticas, linfocitos B y macrófagos), linfocitos T CD4+ y CD8+ y células endoteliales. El TL1A puede expresarse en la superficie celular o secretarse como una citocina soluble. El receptor para TL1A, el receptor de muerte 3 (DR3) es expresado por diversas células, incluyendo linfocitos T CD4+ y CD8+, linfocitos NK, linfocitos NKT y linfocitos T reguladores FOXP3+ (Treg) y células linfoides innatas de tipo 2 y tipo 3 (ILC2 e ILC3).

25

TL1A también puede unirse a un receptor señuelo (DcR3), que es un inhibidor competitivo de DR3. DcR3 también actúa como un receptor señuelo para el ligando Fas (Fas-L) y proteína inducible de tipo linfotóxica que compete con la glucoproteína D por la unión al mediador de entrada del virus del herpes en linfocitos T (LIGHT). Por consiguiente, DcR3 es un regulador importante de varias rutas de transducción de señales.

30

La ruta de señalización TL1A/DR3 se ha implicado en varios sistemas biológicos, que están asociados con enfermedades humanas. Por ejemplo, se ha mostrado que TL1A desempeña una función en la inmunidad, angiogénesis y homeostasis de los tejidos barrera. También se ha mostrado que la inhibición de la interacción de TL1A con DR3 promueve un beneficio terapéutico en varias afecciones inmunomediadas, tales como encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE; un modelo de esclerosis múltiple), colitis, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria intestinal, dermatopatía, asma y artritis.

35

Por consiguiente, los compuestos que inhiben la actividad de TL1A son deseables, p. ej., para sus usos terapéuticos, profilácticos, diagnósticos y pronósticos.

40

Sumario de la invención

45

La presente invención se refiere a un anticuerpo recombinante como se define en las reivindicaciones. En el presente documento se describe un anticuerpo recombinante que comprende una CDR1 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15, una CDR2 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28, una CDR3 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, una CDR1 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29, una CDR2 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19 y una CDR3 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30, siempre que cuando la región variable de cadena pesada comprenda la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, la región variable de cadena ligera no comprenda la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2.

50

55

En algunos aspectos, el anticuerpo comprende una CDR2 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16 y una CDR3 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende una CDR2 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21 y una CDR3 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende una CDR2 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16, una CDR1 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23 y una CDR3 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende una CDR2 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16, una CDR1 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una CDR3 de región variable de cadena ligera que

60

65



respecto a un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. La potencia mejorada puede ser de una potencia al menos aproximadamente 10 veces mayor con respecto a un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. La potencia mejorada puede ser de una potencia al menos aproximadamente 12 veces mayor con respecto a un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. La potencia mejorada puede ser de una potencia al menos aproximadamente 13 veces mayor con respecto a un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. La potencia mejorada puede ser de una potencia al menos aproximadamente 15 veces mayor con respecto a un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. La potencia mejorada puede ser de una potencia al menos aproximadamente 20 veces mayor con respecto a un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. La potencia mejorada puede ser de una potencia al menos aproximadamente 25 veces mayor con respecto a un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. La potencia mejorada puede ser de una potencia al menos aproximadamente 27 veces mayor con respecto a un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. La potencia mejorada puede ser de una potencia al menos aproximadamente 40 veces mayor con respecto a un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. El factor de aumento de la potencia se puede determinar según un ensayo de potencia de caspasa inducida por TL1A en células TF-1.

Dichos anticuerpos recombinantes pueden comprender una región constante de cadena pesada de IgG1 humana, una región constante de cadena pesada de IgG2 humana o una región constante de cadena pesada de IgG4 humana, o cualquier alotipo de las mismas. La región constante de cadena pesada de IgG1 humana puede comprender la SEQ ID NO: 42 o la SEQ ID NO: 43 (IgG1  $\Delta$ K humana), o la SEQ ID NO: 44 (IgG1 humana con YTE), o la SEQ ID NO: 64 (IgG1 humana con YTE y  $\Delta$ K), o la SEQ ID NO: 63 (IgG1 humana con L234A, L235A, G237A) o la SEQ ID NO: 62 (IgG1 humana con L234A, L235A, G237A y  $\Delta$ K), o la SEQ ID NO: 65 (IgG1 humana con L235A y G237A) o la SEQ ID NO: 66 (IgG1 humana con L235A, G237A y  $\Delta$ K). La región constante de cadena pesada de IgG2 humana puede comprender la SEQ ID NO: 67 o la SEQ ID NO: 70 (IgG2  $\Delta$ K humana), o la SEQ ID NO: 71 (IgG2 humana con A330S, P331S) o la SEQ ID NO: 68 (IgG2 humana con A330S, P331S y  $\Delta$ K). La región constante de IgG4 de cadena pesada de IgG4 humana puede comprender la SEQ ID NO: 45 o la SEQ ID NO: 46 (IgG4 humana con S228P y  $\Delta$ K), o la SEQ ID NO: 47 (IgG4 humana con S228P e YTE) o la SEQ ID NO: 69 (IgG4 humana con S228P, YTE y  $\Delta$ K). Se entenderá que podría usarse una cadena pesada de IgG4 sin la sustitución estabilizadora S228P (p. ej., IgG4 con YTE solo, o IgG4 con YTE y  $\Delta$ K, o IgG4 con  $\Delta$ K solo).

Los anticuerpos recombinantes (de la presente invención y los descritos en el presente documento) pueden comprender una región constante de cadena ligera lambda humana o un alotipo de la misma. La región constante lambda de cadena ligera humana puede comprender la SEQ ID NO: 48.

Dichos anticuerpos recombinantes se unen a TL1A humano y pueden unirse al TL1A de un primate no humano o al TL1A de un mamífero no humano tal como un ratón, rata, cobaya, gato, perro, conejo o cerdo.

Dichos anticuerpos recombinantes pueden usarse en un método para tratar una enfermedad de las vías respiratorias, un método para tratar una enfermedad gastrointestinal, un método para tratar una dermatopatía o un método para tratar la artritis, o puede usarse en el tratamiento de una enfermedad de las vías respiratorias, una enfermedad gastrointestinal, una dermatopatía o artritis, o puede usarse en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad de las vías respiratorias, una enfermedad gastrointestinal, una dermatopatía o artritis. La enfermedad de las vías respiratorias puede comprender una o más de asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis pulmonar, sarcoidosis pulmonar, rinitis alérgica o fibrosis quística. La enfermedad gastrointestinal puede comprender una o más de enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn, colitis, colitis ulcerosa, esofagitis eosinofílica o síndrome del intestino irritable, o una enfermedad o afección gastrointestinal asociada con fibrosis quística. La artritis puede comprender artritis reumatoide. La dermatopatía puede comprender una o más de dermatitis atópica, eccema y esclerodermia.

Los sujetos humanos, sujetos primates no humanos o sujetos mamíferos no humanos que necesitan dichos tratamientos pueden tratarse con los anticuerpos o una composición que comprende los anticuerpos, por ejemplo, administrando los anticuerpos o la composición de los mismos al sujeto. La administración puede ser parenteral, por ejemplo, subcutánea y/o intravenosa.

Dichos anticuerpos recombinantes pueden usarse en un método para detectar TL1A en la superficie de células mononucleares de sangre periférica (PBMC). Los métodos comprenden poner en contacto un anticuerpo que se une a TL1A como se describe o ilustra en el presente documento con PBMC obtenidas de un sujeto y detectar el anticuerpo unido a TL1A en la superficie de las PBMC. Los métodos pueden comprender además cuantificar el nivel de TL1A en las PBMC. Los métodos pueden comprender además obtener las PBMC del sujeto.

Dichos anticuerpos recombinantes pueden usarse en un método para detectar TL1A en suero sanguíneo. Los métodos comprenden poner en contacto un anticuerpo que se une a TL1A como se describe o ilustra en el presente documento con suero sanguíneo obtenido de un sujeto y detectar el anticuerpo unido a TL1A en el suero. Los métodos pueden comprender además cuantificar el nivel de TL1A en el suero sanguíneo. Los métodos pueden comprender además obtener el suero de sangre obtenida del sujeto. Los métodos pueden comprender además obtener sangre del sujeto.

Se proporcionan polinucleótidos que codifican uno o más de la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera de dichos anticuerpos (de la presente invención y los descritos en el presente documento). Los polinucleótidos pueden codificar además una región constante de cadena pesada y/o una región constante de cadena ligera.

En algunos aspectos, un polinucleótido comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 51 o la SEQ ID NO: 58. En algunos aspectos, el polinucleótido comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 50. En algunos aspectos, el polinucleótido comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 52 o la SEQ ID NO: 59. En algunos aspectos, el polinucleótido comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 54. En algunos aspectos, el polinucleótido comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 55. En algunos aspectos, el polinucleótido comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 56. En algunos aspectos, el polinucleótido comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 57.

En algunos aspectos, el polinucleótido comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 49. En algunos aspectos, el polinucleótido comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 52. En algunos aspectos, el polinucleótido comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 53. En algunos aspectos, el polinucleótido comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 54. En algunos aspectos, el polinucleótido comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 55. En algunos aspectos, el polinucleótido comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 56.

Se proporcionan vectores que comprenden uno o más de dichos polinucleótidos. Se proporcionan células transformadas con uno o más de dichos polinucleótidos o dichos vectores. Las células transformadas pueden ser de mamíferos y, preferentemente, son células hospedadoras de expresión de mamíferos tales como células CHO, células NS0 o células HEK293.

#### Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra las posiciones e identidades de cada una de las sustituciones de aminoácidos individuales realizadas en las regiones CDR1 o CDR2 o en restos de aminoácidos seleccionados adyacentes a CDR2 de la cadena pesada variable del anticuerpo parental (320-179). Las regiones en recuadros representan las CDR según el sistema de numeración AbM.

La figura 2 muestra las posiciones y las identidades de cada una de las sustituciones de aminoácidos individuales realizadas en las regiones CDR1 o CDR3 de la cadena ligera variable del anticuerpo original (320-179). Las regiones en recuadros representan las CDR según el sistema de numeración AbM.

La figura 3 muestra una alineación de cadenas pesadas de anticuerpos anti-TL1A variantes.

5 La figura 4 muestra una alineación de cadenas ligeras de anticuerpos de unión anti-TL1A variantes.

La figura 5 muestra una comparación de la fase de disociación de TL1A de anticuerpos anti-TL1A variantes, según lo medido mediante RPS.

La figura 6 muestra los resultados de ensayos de potencia de caspasa de células TF-1 con anticuerpos de TL1A variantes.

10 La figura 7 muestra los resultados de los ensayos de potencia de la caspasa de células TF-1 usando diversos anticuerpos de TL1A en comparación con el anticuerpo original, 320-179.

La figura 8 muestra que el anticuerpo 320-587 tiene una potencia de TL1A superior en un ensayo de potencia de caspasa de células TF-1, en comparación con otros anticuerpos anti-TL1A publicados en varios experimentos diferentes.

15 La figura 9 muestra diversos anticuerpos anti-TL1A que inhiben la unión de TL1A a DR3, en comparación con un control de isotipo según lo medido en formato de ELISA.

La figura 10 muestra que el anticuerpo original, 320-179, no inhibe la unión de TL1A a DcR3 mientras que los anticuerpos anti-TL1A variantes inhiben la interacción TL1A-DcR3.

20 La figura 11 muestra que el anticuerpo 320-587 reacciona de manera cruzada y se une a TL1A de diferentes especies; el anticuerpo unido a TL1A de todas las especies probadas.

La figura 12 muestra los resultados de la administración del anticuerpo 320-587 en un modelo de colitis inducida por TNBS de rata, lo que demuestra que el anticuerpo alivia significativamente síntomas de colitis

La figura 13 muestra que el anticuerpo 320-587 detecta TL1A humano secretado de PBMC humanas estimuladas con complejos inmunitarios, en una prueba de ELISA.

25 La figura 14 muestra que el anticuerpo 320-587 detecta una población de PBMC humanas que expresan la membrana TL1A en su superficie, en una prueba de citometría de flujo.

La figura 15 muestra que las ratas que tenían asma aguda inducida por OVA tratada con el anticuerpo 320-587 habían reducido significativamente los eosinófilos en el líquido de lavado broncoalveolar (BALF).

30 Las figuras 16A a 16D muestran que el tratamiento de cobayas que tenían asma aguda inducida por OVA tratada con el anticuerpo 320-587 tuvo mejoras en (fig. 16A) eosinófilos BALF, (fig. 16B) macrófagos BALF, (fig. 16C) hiperreactividad de las vías respiratorias después de reacción asmática temprana y (fig. 16D) magnitud de la reacción asmática temprana.

35 Las figuras 17A a 17E muestran que el tratamiento de ratas que tenían asma crónica inducida por OVA tratada con el anticuerpo 320-587 tuvo mejoras en (fig. 17A) eosinófilos BALF, (fig. 17B) macrófagos BALF, (fig. 17C) IL-13 BALF, (fig. 17D) hiperplasia de células caliciformes según se evaluó mediante reactividad de PAS y (fig. 17E) engrosamiento de la mucosa según se evaluó a partir de secciones teñidas con hematoxilina y eosina.

La figura 18 muestra la dosis de ovoalbúmina necesaria para duplicar la obstrucción de las vías respiratorias.

La figura 19 muestra que el tratamiento de ratas que tenían colitis inducida por TNBS tratada con el anticuerpo 320-587 tuvo mejoras en la fibrosis del área de la úlcera.

40 Las figuras 20A a 20E muestran una comparación de ratas que tenían colitis inducida por TNBS con colitis inducida por DNBS, tratadas con el anticuerpo 320-587 y los efectos a los 7 y 14 días, en (fig. 20A) relación de peso/longitud del colon, (fig. 20B) fibrosis de colon, (fig. 20C) infiltrado de colon y (fig. 20D) daño de colon. La fig. 20E muestra secciones representativas del área de la úlcera a los 7 y 14 días.

45 Las figuras 21A a 21C muestran que el tratamiento de ratas que tienen tratamiento de colitis inducida por DSS con el anticuerpo 320-587 tuvieron mejoras en (fig. 21A) cambio de peso durante la administración de DSS, (fig. 21B) puntuación clínica durante la administración de DSS y (fig. 21C) relación de peso/longitud del colon.

La figura 22 muestra cambios en citocinas intraperitoneales inducidas por TL1A en respuesta al tratamiento con 320-587.

## 50 Descripción detallada de la invención

A lo largo de la memoria descriptiva y las reivindicaciones se usan diversos términos relacionados con aspectos de la divulgación. Dichos términos deben tener su significado habitual en la técnica, a menos que se indique otra cosa. Otros términos definidos de manera específica deben interpretarse de un modo coherente con la definición proporcionada en el presente documento.

55 Los términos "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente e incluyen cualquier animal. Se prefieren los mamíferos, incluyendo mamíferos de compañía (p. ej., gato, perro) y granja (p. ej., cerdo, caballo, vaca), así como roedores, incluyendo ratones, conejos y ratas, cobayas y otros roedores. Se prefieren más primates no humanos, tales como monos cinomolgos, y se prefieren en gran medida seres humanos.

60 Una molécula tal como un anticuerpo se ha "aislado" si se ha alterado y/o eliminado de su ambiente natural por la mano de un ser humano.

65 Como se usan en el presente documento, las formas en singular "un", "uno/a" y "el/la" incluyen referentes plurales a menos que se indique expresamente otra cosa.

La "especificidad" en el contexto de las interacciones anticuerpo-antígeno no es necesariamente una designación absoluta, pero puede constituir un término relativo que significa el grado de selectividad de un anticuerpo para una célula positiva para antígeno en comparación con una célula negativa para antígeno. La especificidad de un anticuerpo para una célula positiva para antígeno está mediada por las regiones variables del anticuerpo y habitualmente por las regiones determinantes de complementariedad (CDR) del anticuerpo. Una construcción puede tener especificidad de aproximadamente 100 a aproximadamente 1000 veces para células positivas para antígeno en comparación con células negativas para antígeno.

Como se usa en el presente documento, el término "recombinante" incluye la expresión de genes preparados mediante ingeniería genética o de otro modo mediante manipulación de laboratorio.

La divulgación proporciona anticuerpos anti-TL1A variantes que comprenden una región variable de cadena pesada y/o ligera alterada de manera recombinante del anticuerpo 320-179, uniéndose dichos anticuerpos variantes de manera específica a TL1A. Estos anticuerpos variantes 320-179 inhiben la capacidad de TL1A para interactuar con DR3 y, en algunos aspectos, también con DcR3 y, además, inhibir la señalización inducida por la interacción de TL1A con DR3. Estos anticuerpos tienen potencia mejorada en relación con el anticuerpo 320-179. Estos anticuerpos tienen afinidad mejorada por TL1A en relación con el anticuerpo 320-179.

La potencia mejorada puede ser de una potencia al menos aproximadamente 10 veces mayor con respecto a un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. La potencia mejorada puede ser de una potencia al menos aproximadamente 12 veces mayor con respecto a un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. La potencia mejorada puede ser de una potencia al menos aproximadamente 13 veces mayor con respecto a un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. La potencia mejorada puede ser de una potencia al menos aproximadamente 15 veces mayor con respecto a un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. La potencia mejorada puede ser de una potencia al menos aproximadamente 20 veces mayor con respecto a un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. La potencia mejorada puede ser de una potencia al menos aproximadamente 25 veces mayor con respecto a un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. La potencia mejorada puede ser de una potencia al menos aproximadamente 27 veces mayor con respecto a un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. La potencia mejorada puede ser de una potencia al menos aproximadamente 40 veces mayor con respecto a un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. Se puede determinar el factor de mejora de la potencia, por ejemplo, midiendo la liberación de caspasa en la apoptosis inducida por TL1A en un ensayo de células TF-1.

Los anticuerpos variantes 320-179 (de la presente invención y los descritos en el presente documento) se expresan de manera recombinante y se unen de manera específica a TL1A. El anticuerpo original, 320-179, comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. En algunos aspectos, un anticuerpo variante 320-179 comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14, siempre que cuando la región variable de cadena pesada comprenda la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, la región variable de cadena ligera no comprenda la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. El anticuerpo variante 320-179 es capaz de inhibir la interacción de TL1A con DR3. El anticuerpo variante 320-179 tiene potencia mejorada con respecto al anticuerpo 320-179 y/o tiene afinidad mejorada por TL1A con respecto al anticuerpo 320-179.

En algunos aspectos, la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4. En algunos aspectos, la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. En algunos aspectos, la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5. En algunos aspectos, la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6. En algunos aspectos, la región variable de cadena pesada

- comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7. En algunos aspectos, la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8. De acuerdo con la invención, la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4. En algunos aspectos, la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6. En algunos aspectos, la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7. En algunos aspectos, la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8. En algunos aspectos, la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.
- 15 Como se ha descrito anteriormente, el anticuerpo variante 320-179 de la presente invención comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y se une específicamente a TL1A. En algunos aspectos, la región variable de cadena pesada de la SEQ ID NO: 3 se une a una región constante de cadena pesada de IgG1 ( $\Delta$ K) humana (p. ej., SEQ ID NO: 43) de modo que la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 60. En algunos aspectos, la región variable de cadena ligera de la SEQ ID NO: 4 se une a una región constante de cadena ligera humana lambda (p. ej., SEQ ID NO: 48) de modo que la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 61. El anticuerpo variante 320-179 es capaz de inhibir la interacción de TL1A con DR3. El anticuerpo variante tiene potencia mejorada con respecto al anticuerpo 320-179 y/o tiene afinidad mejorada por TL1A con respecto al anticuerpo 320-179.
- 25 En algunos aspectos, los anticuerpos variantes 320-179 (de la presente invención y los descritos en el presente documento) se expresan de forma recombinante y se unen de manera específica a TL1A, y comprenden una CDR1 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15, una CDR2 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 y una CDR3 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17. Los anticuerpos pueden comprender una CDR1 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29, una CDR2 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19 y una CDR3 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30. En aspectos en los que la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, la región variable de cadena ligera preferentemente no comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. Estos anticuerpos variantes 320-179 son capaces de inhibir la interacción de TL1A con DR3. Estos anticuerpos variantes 320-179 tienen potencia mejorada con respecto al anticuerpo 320-179 y/o tienen afinidad mejorada por TL1A con respecto al anticuerpo 320-179.
- 40 En algunos aspectos, los anticuerpos se unen específicamente a TL1A y comprenden una CDR1 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15, una CDR2 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16, una CDR3 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, una CDR1 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, una CDR2 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19 y una CDR3 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22.
- 50 En algunos aspectos, los anticuerpos se unen específicamente a TL1A y comprenden una CDR1 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15, una CDR2 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16, una CDR3 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, una CDR1 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23, una CDR2 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19 y una CDR3 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22.
- 55 En algunos aspectos, los anticuerpos se unen específicamente a TL1A y comprenden una CDR1 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15, una CDR2 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16, una CDR3 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, una CDR1 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24, una CDR2 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19 y una CDR3 de región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22.
- 60 En algunos aspectos, los anticuerpos se unen específicamente a TL1A y comprenden una CDR1 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15, una CDR2 de región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16, una CDR3 de región variable
- 65



cadena ligera. La región variable de cadena ligera puede comprender además una región constante lambda.

En algunos aspectos, los anticuerpos se unen específicamente a TL1A y comprenden una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2 y una región variable de cadena pesada, siempre que la región variable de cadena pesada no comprenda la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1. En algunos aspectos, los anticuerpos se unen específicamente a TL1A y comprenden una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una región variable de cadena pesada. En algunos aspectos, los anticuerpos se unen específicamente a TL1A y comprenden una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una región variable de cadena pesada. En algunos aspectos, los anticuerpos se unen específicamente a TL1A y comprenden una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 y una región variable de cadena pesada. En algunos aspectos, los anticuerpos se unen específicamente a TL1A y comprenden una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7 y una región variable de cadena pesada. En algunos aspectos, los anticuerpos se unen específicamente a TL1A y comprenden una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 y una región variable de cadena pesada. En algunos aspectos, los anticuerpos se unen específicamente a TL1A y comprenden una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y una región variable de cadena pesada. En algunos aspectos, los anticuerpos se unen específicamente a TL1A y comprenden una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una región variable de cadena pesada. En algunos aspectos, los anticuerpos se unen específicamente a TL1A y comprenden una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11 y una región variable de cadena pesada. En algunos aspectos, los anticuerpos se unen específicamente a TL1A y comprenden una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12 y una región variable de cadena pesada. En algunos aspectos, los anticuerpos se unen específicamente a TL1A y comprenden una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13 y una región variable de cadena pesada. En algunos aspectos, los anticuerpos se unen específicamente a TL1A y comprenden una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14 y una región variable de cadena pesada, siempre que cuando la región variable de cadena ligera comprenda la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, la región variable de cadena pesada no comprenda la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1. La región variable de cadena pesada puede comprender además una región constante de cadena pesada, incluyendo cualquier secuencia de aminoácidos de región constante de cadena pesada de IgG1, IgG2 o IgG4 descrita o ilustrada en el presente documento.

Los anticuerpos variantes 320-179 se unen específicamente a TL1A. Los anticuerpos se unen a TL1A humano y pueden unirse a uno o más de TL1A de mono cinomolgo, TL1A de ratón, TL1A de rata, TL1A de cobaya, TL1A de gato, TL1A de perro, TL1A de cerdo o TL1A de conejo. En algunos aspectos, los anticuerpos pueden unirse a TL1A de múltiples especies diferentes, por ejemplo, si el epítipo es compartido. En algunos aspectos, el TL1A humano comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32 o SEQ ID NO: 33. En algunos aspectos, el TL1A de mono cinomolgo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 34. En algunos aspectos, el TL1A de ratón comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 35. En algunos aspectos, el TL1A de rata comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36. En algunos aspectos, el TL1A de cobaya comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 37. En algunos aspectos, el TL1A de gato comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 38. En algunos aspectos, el TL1A de cerdo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 39. En algunos aspectos, el TL1A de conejo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40. En algunos aspectos, el TL1A de perro comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41.

Los anticuerpos variantes 320-179 (de la presente invención y los descritos en el presente documento) tienen una afinidad de unión por un epítipo en TL1A que incluye una constante de disociación en equilibrio ( $K_D$ ), que puede medirse según un ensayo de exclusión cinética, tal como un ensayo KINEXA® (Sapidyne Instruments Inc., Boise, ID). La  $K_D$  para la unión a TL1A determinada a partir de un ensayo de exclusión cinética es preferentemente menor de aproximadamente 1000 pM. En algunos aspectos, la  $K_D$  para la unión a TL1A determinada a partir de un ensayo de exclusión cinética es menor de aproximadamente 500 pM, o menor de aproximadamente 400 pM, o menor de aproximadamente 300 pM o menor de aproximadamente 200 pM. En algunos aspectos preferidos, la  $K_D$  para la unión a TL1A determinada a partir de un ensayo de exclusión cinética es menor de aproximadamente 100 pM.

La  $K_D$  para la unión a TL1A determinada a partir de un ensayo de exclusión cinética puede ser de aproximadamente 10 pM a aproximadamente 100 pM. La  $K_D$  para la unión a TL1A determinada a partir de un ensayo de exclusión cinética puede ser de aproximadamente 25 pM a aproximadamente 75 pM. La  $K_D$  para la unión a TL1A determinada a partir de un ensayo de exclusión cinética puede ser de aproximadamente 30 pM a aproximadamente 60 pM. La  $K_D$  para la unión a TL1A determinada a partir de un ensayo de exclusión cinética puede ser de aproximadamente 30 pM a aproximadamente 50 pM. La  $K_D$  para la unión a TL1A determinada a partir de un ensayo de exclusión cinética puede ser de aproximadamente 35 pM a aproximadamente 50 pM. La  $K_D$  para la unión a TL1A determinada a partir de un ensayo de exclusión cinética puede ser de aproximadamente 36 pM a aproximadamente 46 pM. La  $K_D$  para la unión a TL1A determinada a partir de un ensayo de exclusión cinética puede ser de aproximadamente 38 pM a aproximadamente 44 pM. La  $K_D$  para la unión a TL1A determinada a partir de un ensayo de exclusión cinética puede

ser de aproximadamente 39 pM a aproximadamente 43 pM. La  $K_D$  para la unión a TL1A determinada a partir de un ensayo de exclusión cinética puede ser de aproximadamente 40 pM a aproximadamente 45 pM. La  $K_D$  para la unión a TL1A determinada a partir de un ensayo de exclusión cinética puede ser de aproximadamente 35 pM a aproximadamente 42 pM. La  $K_D$  para la unión a TL1A determinada a partir de un ensayo de exclusión cinética puede ser de aproximadamente 40 pM. La  $K_D$  para la unión a TL1A determinada a partir de un ensayo de exclusión cinética puede ser de aproximadamente 41 pM. La  $K_D$  para la unión a TL1A determinada a partir de un ensayo de exclusión cinética puede ser de aproximadamente 42 pM. El ensayo de exclusión cinética puede usar la molécula de anticuerpo o la molécula de TL1A como el compañero de unión constante y la otra molécula como el valorante.

Los anticuerpos anti-TL1A variantes 320-179 (de la presente invención y los descritos en el presente documento) son preferentemente capaces de unirse a células positivas para TL1A. El anticuerpo puede unirse a una célula positiva para TL1A con un valor de  $CE_{50}$  de menos de aproximadamente 100 nM. El anticuerpo puede unirse a una célula positiva para TL1A con un valor de  $CE_{50}$  de menos de aproximadamente 75 nM. El anticuerpo puede unirse a una célula positiva para TL1A con un valor de  $CE_{50}$  de menos de aproximadamente 50 nM. El anticuerpo puede unirse a una célula positiva para TL1A con un valor de  $CE_{50}$  de menos de aproximadamente 30 nM. El anticuerpo puede unirse a una célula positiva para TL1A con un valor de  $CE_{50}$  de menos de aproximadamente 25 nM. El anticuerpo puede unirse a una célula positiva para TL1A con un valor de  $CE_{50}$  de menos de aproximadamente 20 nM. El anticuerpo puede unirse a una célula positiva para TL1A con un valor de  $CE_{50}$  de menos de aproximadamente 18 nM. El anticuerpo puede unirse a una célula positiva para TL1A con un valor de  $CE_{50}$  de menos de aproximadamente 15 nM. El anticuerpo puede unirse a una célula positiva para TL1A con un valor de  $CE_{50}$  de menos de aproximadamente 13 nM. El anticuerpo puede unirse a una célula positiva para TL1A con un valor de  $CE_{50}$  de menos de aproximadamente 10 nM.

Los anticuerpos variantes 320-179 (de la presente invención y los descritos en el presente documento) son preferentemente monoclonales y son más preferentemente anticuerpos de longitud completa que comprenden dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. En algunos aspectos, los anticuerpos comprenden derivados o fragmentos o partes de anticuerpos que conservan la especificidad de unión a antígeno, y también preferentemente conservan la mayor parte o la totalidad de la afinidad, de la molécula de anticuerpo parental 320-179 (p. ej., para TL1A). Por ejemplo, los derivados pueden comprender al menos una región variable (bien una región variable de cadena pesada o de cadena ligera). Otros ejemplos de derivados y fragmentos de anticuerpos adecuados incluyen, sin limitación, anticuerpos con especificidad poliepitópica, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos multiespecíficos, diacuerpos, moléculas monocatenarias, así como moléculas FAb, F(ab')<sub>2</sub>, Fd, Fabc y Fv, anticuerpos monocatenarios (Sc), anticuerpos Fv monocatenarios (scFv), cadenas ligeras de anticuerpos individuales, cadenas pesadas de anticuerpos individuales, fusiones entre cadenas de anticuerpos y otras moléculas, monómeros o dímeros de cadena pesada, monómeros o dímeros de cadena ligera, dímeros que consisten en una cadena pesada y una ligera y otros multímeros. Los anticuerpos Fv monocatenarios pueden ser multivalentes. Todos los isotipos de anticuerpos pueden usarse para producir derivados de anticuerpos, fragmentos y partes. Pueden producirse derivados, fragmentos y/o partes de anticuerpos de manera recombinante y ser expresados por cualquier tipo celular, procariota o eucariota.

En un anticuerpo de longitud completa, cada cadena pesada está compuesta por una región variable de cadena pesada (abreviada en el presente documento como HCVR o VH) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada está compuesta por tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera está compuesta por una región variable de cadena ligera (abreviada en el presente documento como LCVR o VL) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera comprende un dominio, CL. Las regiones VH y VL pueden subdividirse adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco conservadas (FR). Cada VH y VL está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino hasta el extremo carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Normalmente, es menos probable que las propiedades de unión a antígeno de un anticuerpo sean alteradas por cambios en las secuencias de FR que por cambios en las secuencias de CDR. Las moléculas de inmunoglobulina pueden ser de cualquier tipo (p. ej., IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY), clase (p. ej., IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) o subclase.

Los anticuerpos variantes 320-179 (de la presente invención y los descritos en el presente documento) son completamente humanos. Son anticuerpos completamente humanos aquellos en los que la molécula completa es humana o de otro modo de origen humano o incluye una secuencia de aminoácidos idéntica a una forma humana del anticuerpo. Los anticuerpos completamente humanos incluyen los obtenidos de una biblioteca de genes V humanos, por ejemplo, donde los genes humanos que codifican regiones variables de anticuerpos se expresan de manera recombinante. Pueden expresarse anticuerpos completamente humanos en otros organismos (p. ej., ratones y tecnología xenomouse) o células de otros organismos transformados con genes que codifican anticuerpos humanos. No obstante, los anticuerpos completamente humanos pueden incluir restos de aminoácidos no codificados por secuencias humanas, p. ej., mutaciones introducidas por mutaciones aleatorias o dirigidas.

En algunos aspectos, los anticuerpos variantes 320-179 pueden comprender estructuras proteicas no procedentes de inmunoglobulina. Por ejemplo, se puede hacer referencia a (Ku y Schutz, 1995, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 6552-6556) que describe un citocromo b562 de proteína de haz de cuatro hélices que tiene dos bucles aleatorizados para crear CDR, que se han seleccionado para unión a antígeno.

Los anticuerpos variantes 320-179 (de la presente invención y los descritos en el presente documento) pueden comprender modificaciones o restos postraduccionales, lo que puede influir en la actividad o estabilidad del anticuerpo. Estas modificaciones o restos incluyen, pero sin limitación, restos metilados, acetilados, glucosilados, sulfatados, fosforilados, carboxilados y amidados y otros restos que son bien conocidos en la técnica. Los restos incluyen cualquier grupo químico o combinaciones de grupos que se encuentran habitualmente en moléculas de inmunoglobulina en la naturaleza o que se añaden de otro modo a anticuerpos mediante sistemas de expresión recombinantes, incluyendo sistemas de expresión procariotas y eucariotas.

Los ejemplos de modificaciones de las cadenas laterales contempladas por la divulgación incluyen modificaciones de grupos amino tales como por alquilación reductora mediante reacción con un aldehído seguido de reducción con NaBH<sub>4</sub>; amidación con metilacetimidato; acilación con anhídrido acético; carbamoilación de grupos amino con cianato; trinitrobenzilación de grupos amino con ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfónico (TNBS); acilación de grupos amino con anhídrido succínico y anhídrido tetrahidroftálico; y piridoxilación de lisina con piridoxal-5-fosfato seguido de reducción con NaBH<sub>4</sub>.

El grupo de guanidina de restos de arginina puede modificarse mediante la formación de productos de condensación heterocíclicos con reactivos tales como 2,3-butanodiona, fenilgloxal y glixal. El grupo carboxilo puede modificarse mediante la activación de carbodiimida a través de la formación de O-acilisourea seguido de derivación posterior, por ejemplo, a una amida correspondiente. Los grupos sulfhidrilo pueden modificarse mediante métodos tales como carboximetilación con ácido yodoacético o yodoacetamida; oxidación de ácido per fórmico a ácido cisteico; formación de disulfuros mixtos con otros compuestos de tior; reacción con maleimida, anhídrido maleico u otra maleimida sustituida; formación de derivados mercuriales usando 4-cloromercuribenzoato, ácido 4-cloromercurifenilsulfónico, cloruro de fenilmercurio, 2-cloromercuri-4-nitrofenol y otros mercuriales; carbamoilación con cianato a pH alcalino. Los restos de triptófano pueden modificarse mediante, por ejemplo, oxidación con N-bromosuccinimida o alquilación del anillo de indol con bromuro de 2-hidroxi-5-nitrobenzilo o haluros de sulfenilo. Los restos de tirosina, por otro lado, pueden alterarse mediante nitración con tetranitrometano para formar un derivado de 3-nitrotirosina. Se puede realizar modificación del anillo de imidazol de un resto de histidina mediante alquilación con derivados de ácido yodoacético o N-carboxilación con dietilpirocarbonato.

Los anticuerpos variantes 320-179 (de la presente invención y los descritos en el presente documento) pueden incluir modificaciones que modulan la semivida en suero y la biodistribución, incluyendo, sin limitación, modificaciones que modulan la interacción del anticuerpo con el receptor de Fc neonatal (FcRn), un receptor con una función clave en la protección de la IgG del catabolismo y el mantenimiento de alta concentración de anticuerpo en suero. Pueden producirse modificaciones moduladoras de la semivida en suero en la región Fc de IgG1, IgG2 o IgG4, incluyendo la sustitución triple de M252Y/S254T/T256E (las sustituciones "YTE", con numeración según el sistema de numeración EU (Edelman, G.M. *et al.* (1969) Proc. Natl. Acad. USA 63, 78-85)), como se describe en la patente de los Estados Unidos n.º 7.083.784. Pueden producirse otras sustituciones en las posiciones 250 y 428, véase, p. ej., patente de los Estados Unidos n.º 7.217.797, así como en las posiciones 307, 380 y 434, véase, p. ej., publicación de PCT n.º WO 00/042072. Se describen ejemplos de sustituciones de aminoácidos de dominio constante que modulan la unión con receptores de Fc y la función posterior mediada por estos receptores, incluyendo unión a FcRn y semivida en suero, en las publicaciones de los Estados Unidos n.º 2009/0142340, 2009/0068175 y 2009/0092599. Los anticuerpos de cualquier clase pueden tener la lisina C-terminal de cadena pesada omitida o eliminada para reducir la heterogeneidad ( $\Delta$ K). La sustitución de S228P (numeración EU) en la IgG4 humana puede estabilizar el intercambio de la rama de Fab de anticuerpos *in vivo* (Labrin *et al.* (2009) Nature Biotechnology 27: 8; 767-773) y esta sustitución puede estar presente al mismo tiempo que las modificaciones YTE y/o  $\Delta$ K.

Los anticuerpos variantes 320-179 comprenden dominios constantes humanos. Los dominios constantes de cadena pesada son preferentemente dominios constantes de IgG1, IgG2 o IgG4 humanos. Los dominios constantes de cadena ligera son preferentemente dominios constantes lambda humanos. Un dominio lambda humano adecuado comprende la SEQ ID NO: 48.

Las regiones constantes de IgG1 de cadena pesada humana que pueden usarse con los anticuerpos variantes 320-179 pueden seleccionarse entre IgG1 humana (SEQ ID NO: 42), IgG1 humana ( $\Delta$ K) (SEQ ID NO: 43), IgG1 humana 252Y/254T/256E (SEQ ID NO: 44), IgG1 humana 252Y/254T/256E ( $\Delta$ K) (SEQ ID NO: 64), IgG1 humana L234A/L235A/G237A (SEQ ID NO: 63), IgG1 humana L234A/L235A/G237A ( $\Delta$ K) (SEQ ID NO: 62), IgG1 humana L235A/G237A (SEQ ID NO: 65) e IgG1 humana L235A/G237A ( $\Delta$ K) (SEQ ID NO: 66). Las regiones constantes de IgG2 de cadena pesada humana que se pueden usar con los anticuerpos variantes 320-179 se pueden seleccionar entre IgG2 humana con o sin  $\Delta$ K (SEQ ID NO: 67 y SEQ ID NO: 70) e IgG2 humana A330S/P331S con o sin ( $\Delta$ K) (SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 68). Las regiones constantes de IgG4 de cadena pesada humana que pueden usarse con los anticuerpos variantes 320-179 pueden seleccionarse entre IgG4 humana S228P (SEQ ID NO: 45), IgG4 humana S228P ( $\Delta$ K) (SEQ ID NO: 46), IgG4 humana 228P/252Y/254T/256E (SEQ ID NO: 47) e IgG4 humana 228P/252Y/254T/256E ( $\Delta$ K) (SEQ ID NO: 69).

Los anticuerpos variantes 320-179 pueden estar marcados, unidos o conjugados con cualquier resto químico o de biomolécula. Los anticuerpos marcados pueden encontrar uso en aplicaciones terapéuticas, de diagnóstico o de

investigación básica. Dichos marcadores/conjugados pueden ser detectables, tales como fluorocromos, sondas electroquimioluminiscentes, puntos cuánticos, radiomarcadores, enzimas, proteínas fluorescentes, proteínas luminiscentes y biotina. Los marcadores/conjugados pueden ser agentes quimioterapéuticos, toxinas, isótopos y otros agentes usados para tratar afecciones tales como la destrucción de células cancerosas. Los agentes quimioterapéuticos pueden ser cualquiera que sea adecuado para el fin para el que se usa el anticuerpo.

Los anticuerpos pueden derivatizarse mediante grupos protectores/bloqueadores conocidos para evitar la escisión proteolítica o mejorar la actividad o la estabilidad.

En la divulgación se presentan secuencias polinucleotídicas que codifican anticuerpos (de la presente invención y los descritos en el presente documento) y sus subdominios (p. ej., FR y CDR). Los polinucleótidos incluyen, pero sin limitación, ARN, ADN, ADNc, híbridos de ARN y ADN y cadenas mono, bi o tricatenarias de ARN, ADN o híbridos de los mismos. Los polinucleótidos pueden comprender una secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de cadena pesada y/o la región variable de cadena ligera de un anticuerpo variante 320-179 como se describe o ilustra en el presente documento. También se encuentran dentro del alcance de la divulgación complementos de las secuencias polinucleotídicas.

Un polinucleótido puede comprender una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3. Un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 puede comprender la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 51.

Un polinucleótido puede comprender una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1. Un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 puede comprender la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 49.

Un polinucleótido puede comprender una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. Un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2 puede comprender la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 50.

Un polinucleótido puede comprender una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4. Un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 puede comprender la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 52.

Un polinucleótido puede comprender una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5. Un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 puede comprender la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 53.

Un polinucleótido puede comprender una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6. Un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 puede comprender la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 54.

Un polinucleótido puede comprender una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7. Un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7 puede comprender la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 55.

Un polinucleótido puede comprender una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8. Un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 puede comprender la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 56.

Un polinucleótido puede comprender una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10. Un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 puede comprender la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 57.

En algunos aspectos, un polinucleótido comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena pesada de anticuerpo y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo. Una primera secuencia de ácido nucleico puede codificar una región variable de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable



55.

Una primera secuencia de ácido nucleico puede codificar una región variable de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8. Un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 puede comprender la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 49 y un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 puede comprender la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 56.

En algunos aspectos, un polinucleótido comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena pesada de anticuerpo y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica una región constante de cadena pesada. En aspectos preferentes, un polinucleótido comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica una región constante de cadena pesada de IgG1 ( $\Delta K$ ) de la SEQ ID NO: 43, por ejemplo, un polinucleótido que comprende la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 58.

En algunos aspectos, un polinucleótido comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica una región constante de cadena ligera. En aspectos preferentes, un polinucleótido comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica una región constante de cadena ligera lambda de la SEQ ID NO: 48, por ejemplo, un polinucleótido que comprende la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 59.

Cualquiera de los polinucleótidos descritos o ilustrados en el presente documento puede estar comprendido dentro de un vector. Por tanto, se proporcionan vectores que comprenden polinucleótidos como parte de la divulgación. Los vectores pueden ser vectores de expresión. Se proporcionan por tanto vectores de expresión recombinante que contienen una secuencia que codifica un polipéptido de interés. El vector de expresión puede contener una o más secuencias adicionales, tales como, pero sin limitación, secuencias reguladoras, un marcador de selección, un marcador de purificación o una señal de poliadenilación. Dichos elementos reguladores pueden incluir un promotor de la transcripción, potenciadores, sitios de unión ribosómica de ARNm o secuencias que controlan la terminación de la transcripción y la traducción.

Los vectores de expresión, especialmente vectores de expresión de mamíferos, pueden incluir uno o más elementos no transcritos, tales como un origen de replicación, un promotor adecuado y potenciador ligado al gen para expresar, otras secuencias no transcritas flanqueantes 5' o 3', secuencias no traducidas 5' o 3' (tales como sitios de unión a ribosomas necesarios), un sitio de poliadenilación, sitios donantes y aceptores de corte y empalme o secuencias de terminación de la transcripción. También puede incorporarse un origen de replicación que confiere la capacidad de replicar en un hospedador específico.

Los vectores pueden usarse para transformar cualquiera de una amplia gama de células hospedadoras bien conocidas por los expertos en la materia y preferentemente células hospedadoras capaces de expresar anticuerpos. Los vectores incluyen, sin limitación, plásmidos, fagémidos, cósmidos, báciomidos, cromosomas artificiales de bacterias (BAC), cromosomas artificiales de levadura (YAC) y baculovirus, así como otros vectores bacterianos, eucariotas, de levadura y víricos. Las células hospedadoras adecuadas incluyen, sin limitación, células CHO, células NS0, células HEK293 o cualquier línea celular estable eucariota conocida o producida, y también incluyen bacterias, levadura y células de insectos.

Los anticuerpos también pueden ser producidos por células de hibridoma; siendo los métodos para producir hibridomas bien conocidos y establecidos en la técnica.

La divulgación también proporciona composiciones que comprenden los anticuerpos variantes 320-179 (de la presente invención y los descritos en el presente documento). Las composiciones pueden comprender cualquiera de los anticuerpos descritos y/o ilustrados en el presente documento y un vehículo aceptable tal como un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los vehículos adecuados incluyen cualquier medio que no interfiera con la actividad biológica del anticuerpo y preferentemente no sea tóxico para un hospedador al que se administra. Las composiciones pueden formularse para su administración a un sujeto en cualquier forma farmacéutica adecuada.

Los anticuerpos variantes 320-179 (de la presente invención y los descritos en el presente documento) pueden usarse para tratar una enfermedad de las vías respiratorias, una enfermedad gastrointestinal, artritis o una dermatopatía en un sujeto. Por tanto, la divulgación presenta métodos de tratamiento. En general, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para una enfermedad de las vías respiratorias, enfermedad gastrointestinal, artritis o una dermatopatía, de modo que se trate la enfermedad de las vías respiratorias, enfermedad gastrointestinal, artritis o dermatopatía. El anticuerpo variante 320-179 puede comprender cualquier anticuerpo descrito o ilustrado en el presente documento. La administración puede comprender

la administración subcutánea del anticuerpo. La administración puede comprender la administración intravenosa del anticuerpo. El sujeto es preferentemente un ser humano. El sujeto puede ser un primate no humano tal como un mono cinomolgo o puede ser un mamífero tal como un ratón, rata, cobaya, gato, cerdo, conejo o perro.

5 En aspectos en los que se va a tratar una enfermedad de las vías respiratorias, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para una enfermedad de las vías respiratorias. La enfermedad de las vías respiratorias puede comprender una o más de asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis pulmonar, sarcoidosis pulmonar, rinitis alérgica o fibrosis quística. Por tanto, por ejemplo, en algunos aspectos, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para asma, de modo que se trate el asma en el sujeto. En algunos aspectos, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para EPOC, de modo que se trate la EPOC en el sujeto. En algunos aspectos, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para fibrosis pulmonar, de modo que se trate la fibrosis pulmonar en el sujeto. En algunos aspectos, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para sarcoidosis pulmonar, de modo que se trate la sarcoidosis pulmonar en el sujeto. En algunos aspectos, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para rinitis alérgica, de modo que se trate la rinitis alérgica en el sujeto. En algunos aspectos, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para fibrosis quística, de modo que se trate la fibrosis quística en el sujeto.

En aspectos en los que se va a tratar una enfermedad gastrointestinal, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para una enfermedad gastrointestinal. La enfermedad gastrointestinal puede comprender una o más de enfermedad inflamatoria intestinal (EII), enfermedad de Crohn, colitis, colitis ulcerosa, síndrome del intestino irritable (SII), esofagitis eosinofílica o una enfermedad o afección gastrointestinal asociada con la fibrosis quística. Por tanto, por ejemplo, en algunos aspectos, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para EII, de modo que se trate la EII en el sujeto. En algunos aspectos, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para enfermedad de Crohn, de modo que se trate la enfermedad de Crohn en el sujeto. En algunos aspectos, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para colitis, de modo que se trate la colitis en el sujeto. En algunos aspectos, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para colitis ulcerosa, de modo que se trate la colitis ulcerosa en el sujeto. En algunos aspectos, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para SII, de modo que se trate el SII en el sujeto. En algunos aspectos, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para esofagitis eosinofílica, de modo que se trate la esofagitis eosinofílica en el sujeto. En algunos aspectos, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para una enfermedad o afección gastrointestinal asociada con fibrosis quística, de modo que se trate la enfermedad o afección gastrointestinal asociada con fibrosis quística en el sujeto.

En aspectos en los que se va a tratar la artritis, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para artritis. La artritis puede comprender artritis reumatoide. Por tanto, por ejemplo, en algunos aspectos, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para artritis reumatoide, de modo que se trate la artritis reumatoide en el sujeto.

En aspectos en los que se va a tratar una dermatopatía, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para una dermatopatía. La dermatopatía puede comprender una o más de dermatitis atópica, eccema o esclerodermia. Por tanto, por ejemplo, en algunos aspectos, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para dermatitis atópica, de modo que se trate la dermatitis atópica en el sujeto. En algunos aspectos, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para eccema, de modo que se trate el eccema en el sujeto. En algunos aspectos, los métodos comprenden administrar un anticuerpo variante 320-179, o composición del mismo, a un sujeto que necesite tratamiento para esclerodermia, de modo que se trate la esclerodermia en el sujeto.

Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en la preparación de un medicamento para su uso en el tratamiento de una enfermedad de las vías respiratorias. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en la preparación de un medicamento para su uso en el tratamiento de una enfermedad gastrointestinal. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en la preparación de un medicamento para su uso en el tratamiento de la artritis. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en la preparación de un medicamento para su uso en el tratamiento de una dermatopatía. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en la preparación de un

medicamento para su uso en el tratamiento de una cualquiera de asma, EPOC, fibrosis pulmonar, sarcoidosis pulmonar, rinitis alérgica, fibrosis quística, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn, colitis, colitis ulcerosa, síndrome del intestino irritable, esofagitis eosinofílica, una enfermedad o afección gastrointestinal asociada con la fibrosis quística, artritis, artritis reumatoide, dermatitis atópica, eccema o esclerodermia.

5 Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento de una enfermedad de las vías respiratorias. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento de una enfermedad gastrointestinal. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento del asma. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento de una dermatopatía. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento de la EPOC. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento de la fibrosis pulmonar. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento de la sarcoidosis pulmonar. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento de la rinitis alérgica. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento de la fibrosis crítica. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento de la enfermedad de Crohn. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento de la colitis. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento de la colitis ulcerosa. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento de la esofagitis eosinofílica. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento de una enfermedad o afección gastrointestinal asociada con la fibrosis quística. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento del síndrome del intestino irritable. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento de la artritis reumatoide. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento de la dermatitis atópica. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento del eccema. Los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento pueden usarse en el tratamiento de la esclerodermia.

También se proporciona un método *in vitro* para detectar TL1A en una muestra tisular aislada de un sujeto, que comprende poner en contacto el anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-19 con una muestra tisular aislada de un sujeto para formar un complejo de anticuerpo-TL1A y detectar el complejo en la muestra tisular.

35 Se puede usar un anticuerpo variante 320-179 para detectar células positivas para TL1A, por ejemplo, en una muestra tisular obtenida de un sujeto. Los anticuerpos se pueden usar para detectar células mononucleares de sangre periférica (PBMC) positivas para TL1A, por ejemplo, PBMC obtenidas de un sujeto. Los anticuerpos se pueden usar para detectar TL1A en el suero sanguíneo. Dichos métodos pueden llevarse a cabo *in vivo*, *ex vivo*, *in vitro* o *in situ*. En general, los métodos comprenden poner en contacto cualquiera de los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento con un tejido o células, p. ej., PBMC, aislados de un sujeto para formar un complejo de anticuerpo-TL1A y detectar el complejo en el tejido o en las células. El anticuerpo puede estar marcado con un marcador detectable. El anticuerpo puede detectarse con un anticuerpo secundario que está marcado con un marcador detectable. El tejido puede comprender o puede ser un líquido biológico tal como sangre o suero sanguíneo. El tejido puede comprender o puede ser tejido de las vías respiratorias, tal como tejido pulmonar, esputo, líquido de lavado broncoalveolar, tejido gastrointestinal o líquido de lavado gastrointestinal. El tejido puede comprender o puede ser piel o tejido dérmico. El tejido puede comprender o puede ser tejido de cualquier articulación del cuerpo. El método puede comprender además aislar el tejido del sujeto. Dichos métodos pueden ser cuantitativos, por ejemplo, cuantificando el nivel de TL1A en el tejido, cuantificando el nivel de células positivas para TL1A o cuantificando el nivel de TL1A en células, o cuantificando el nivel de TL1A en el suero.

La divulgación también presenta kits que comprenden cualquiera de los anticuerpos variantes 320-179 descritos e ilustrados en el presente documento. Los equipos pueden usarse para suministrar anticuerpos y otros agentes para su uso en métodos de diagnóstico, investigación básica o terapéuticos, entre otros. En algunos aspectos, los kits comprenden uno cualquiera o más de los anticuerpos variantes 320-179 descritos o ilustrados en el presente documento e instrucciones para usar el o los anticuerpos en un método para tratar una enfermedad de las vías respiratorias, en un método para tratar una enfermedad gastrointestinal o en un método para tratar la artritis.

Los siguientes ejemplos se proporcionan para describir la divulgación con mayor detalle. Su objetivo es ilustrar, no limitar, la divulgación. La referencia a variantes 320-179 distintas de 320-587 se incluye con fines de referencia.

#### Ejemplo 1

##### Materiales y métodos

65 Las posiciones de aminoácidos en estos ejemplos están numeradas según el sistema de numeración de Kabat. Las

CDR se definen según el método AbM del sistema de definición de CDR a lo largo del presente documento.

1.1. Generación de paquetes variantes. Las secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada y ligera del anticuerpo 320-179 (SEQ ID NO: 1 y 2 respectivamente) se usaron como moldes para el diseño de variantes puntuales. 320-179 se ha descrito previamente en la publicación de los Estados Unidos n.º 2014/0255302 (VH es SEQ ID NO: 186 y VL es SEQ ID NO: 199 en esa publicación) como 320-179 (también descrito como C320-179). Este anticuerpo tenía propiedades biofísicas favorables, era un inhibidor potente de TL1A y tenía un perfil de inmunogenicidad predicho bajo.

Se prepararon variantes de anticuerpos de 320-179 sustituyendo uno de un grupo de nueve aminoácidos representativos - A, S, Q, D, H, K, L, W, Y - uno cada vez en una de cada posición de aminoácido de CDR (como se define por la nomenclatura AbM) en la CDR1 de cadena ligera (CDR-L1), la CDR3 de cadena ligera (CDR-L3), la CDR1 de cadena pesada (CDR-H1) y la CDR2 de cadena pesada (CDR-H2). También se realizaron variantes de anticuerpos, que incorporan A, S, Q, D, H, K, L, W, Y, en la posición 59 y 60 en la cadena pesada variable y en la posición 79 en la cadena ligera variable. Se muestra una lista completa de todas las variantes de anticuerpos con sustituciones individuales generadas en las figuras 1 (cadena pesada variable) y 2 (cadena ligera variable), respectivamente.

1.2. Construcción de vectores que expresan anticuerpos. Se generaron variantes de región variable mediante retrotraducción de secuencias de aminoácidos en secuencias de ADN que posteriormente se sintetizaron *de novo* mediante ensamblaje de oligonucleótidos sintéticos. Se subclonaron variantes de  $V_H$  en un vector de expresión de mamífero que contiene una región constante humana para producir cadenas pesadas de anticuerpos de longitud completa (dominios  $C_{H1}$ , bisagra,  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$  de cadena pesada de IgG1 humana) (p. ej., UniProt n.º P01857). De manera análoga, se subclonaron variantes de  $V_L$  en un vector de expresión de mamífero que contenía una región constante de cadena ligera lambda humana para producir cadenas lambda de anticuerpos de longitud completa (SwissProt n.º P0CG05.1). En algunos casos, la cadena pesada y, por separado, la cadena ligera de longitud completa, se tradujo de vuelta a secuencias de ADN y posteriormente se sintetizó *de novo* mediante ensamblaje de oligonucleótidos sintéticos.

1.3. Expresión de variantes de anticuerpos. Se produjeron anticuerpos co-transfectando cadenas pesadas y ligeras de anticuerpos en células EXPI293® (Life Technologies, Carlsbad, CA). El día antes de la transfección, se determinó el número de células necesarias para el experimento. Para cada transfección de 20 ml, fueron necesarias  $3,6 \times 10^7$  células en 20 ml de medio de expresión EXPI293®. El día anterior a la transfección, las células se sembraron a una densidad de  $0,9 \times 10^6$  células viables/ml y se incubaron durante una noche a 37 °C en una atmósfera humidificada de CO<sub>2</sub> al 8 % en aire en un agitador orbital que gira a 200 rpm. El día de la transfección, el número y la viabilidad de las células se determinaron utilizando un contador celular automático. Solo se utilizaron cultivos con >98 % de células viables. Para cada transfección de 20 ml, se prepararon complejos de lípido-ADN diluyendo 10 mg de ADN de cadena pesada y 10 mg de ADN de cadena ligera en medio de suero reducido OPTI-MEM® (Life Technologies, Carlsbad, CA) I (cat. n.º 31985-062) a un volumen total de 1,0 ml. Se diluyeron 54 ml de reactivo EXPIFECTAMINE® 293 (Life Technologies, Carlsbad, CA) en medio OPTI-MEM® I hasta un volumen total de 1,0 ml. Ambos viales se mezclaron suavemente y se incubaron durante 5 minutos a temperatura ambiente. Después de la incubación, el ADN diluido se mezcló con el reactivo EXPIFECTAMINE® 293 diluido y la mezcla de reactivos DNA-EXPIFECTAMINE® 293 y se incubó durante 20 minutos más a temperatura ambiente para permitir la formación de complejos de reactivos DNA-EXPIFECTAMINE® 293. Después de la incubación, se añadieron 2 ml de complejo de reactivos DNA-EXPIFECTAMINE® 293 a cada tubo de biorreactor de 50 ml (TPP Techno Plastic Products AG). Al tubo de control negativo, se añadieron 2 ml de medio OPTI-MEM® (Life Technologies, Carlsbad, CA) I en lugar del complejo reactivo DNA-EXPIFECTAMINE® 293. Las células se incubaron en una incubadora a 37 °C con una atmósfera humidificada de CO<sub>2</sub> al 8 % en aire en un agitador orbital que rota a 200 rpm. Aproximadamente 16-18 horas después de la transfección, se añadieron 100 ml de potenciador de la transfección EXPIFECTAMINE® 293 1 y 1,0 ml de potenciador de la transfección EXPIFECTAMINE® 293 2 a cada biorreactor. Los anticuerpos se recogieron aproximadamente a las 72 horas después de la transfección.

1.4. Purificación de variantes de anticuerpos. Cada variante de anticuerpo se expresó en células EXPI293® en 20 ml de cultivo celular. Los cultivos se centrifugaron en tubos falcon de 50 ml a 3000 x g durante 20 minutos y los sobrenadantes se filtraron usando un filtro de 0,22 mm (Corning). Los sobrenadantes se purificaron usando un robot Gilson ASPEC GX274. En resumen, se equilibraron previamente cartuchos SPE (Agilent, 12131014) empaquetados con 1,2 ml de resina de proteína A MABSELECT SURE® (GE Healthcare BioSciences AB Uppsala, Suecia) con 3 volúmenes de columna de PBS 1X. Se pasaron 18 ml de sobrenadante sobre las columnas seguido de un lavado de PBS 1X de 4 ml. Cada columna se eluyó previamente con 0,9 ml de ácido cítrico 0,1 M, pH 2,9. Los anticuerpos purificados se eluyeron con 2 ml de ácido cítrico 0,1 M, pH 2,9. Los anticuerpos se desalaron en PBS Sørensens (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 59,5 mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 7,3 mM, NaCl 145,4 mM (pH ~ 5,8)) utilizando columnas PD-10 (GE Healthcare).

1.5. Expresión de anticuerpos y unión a antígeno según lo determinado mediante RPS. Usando una microplaca sensora CM5 (GE Healthcare), se acopló proteína A (Pierce) a la superficie de la microplaca usando un kit de acoplamiento de amina (GE Healthcare). La proteína A se acopló en la celda de flujo 1 y 2 (o, como alternativa, 3 y 4) usando un BIACORE® T200. Se pasaron sobrenadantes de células EXPI-293® que contenían anticuerpos o anticuerpos purificados de manera alternativa (según lo descrito en 1.4) sobre la superficie de la celda de flujo 2, mientras que se pasó tampón (HBS-EP) sobre la celda de flujo 1. La cantidad de sobrenadante o proteína purificada (así como la concentración) inyectada durante la etapa de captura varió entre ejecuciones y se especifica en el encabezado de las tablas 3-11. Al final de la inyección del sobrenadante o anticuerpo purificado se midió el cambio en las unidades de respuesta. Este valor se indicó como nivel de captura en las tablas 3-11. Para determinar si el anticuerpo se unió a TL1A, se pasó después el TL1A sobre las celdas de flujo 1 y 2 y se midieron las unidades de

respuesta antes del final de la inyección de TL1A (la fase de asociación). Este valor está marcado como nivel de unión a TL1A (temprano) en las tablas 3-11. Las unidades de respuesta se midieron antes del final de la fase de disociación. Este valor está marcado como nivel de unión a TL1A (tardío) en las tablas 3-11 y es una medida de la cantidad de anticuerpo que se ha perdido de la superficie de la microplaca como resultado de la disociación del complejo de TL1A - anticuerpo. Los sensorgramas tuvieron doble referencia (la celda de flujo 2 se resta de la celda de flujo 1 y un blanco de tampón). Ya que había una gran cantidad de variantes de anticuerpos para cribar, estas se cribaron en diferentes ciclos (tablas 3-11). En cada caso (excepto el ciclo 3) el anticuerpo original, 320-179, se incluyó en el ciclo, con fines de comparación. A continuación se muestra un resumen de las condiciones utilizadas en cada ciclo:

5

10

Tabla 1.

N.º de ciclo	Sobrenadante	Proteína	Nivel de captura aproximado (UR)	Conc. Muestra de TL1A (ug/ml)	Punto temporal de nivel de unión a TL1A (temprano)	Punto temporal de nivel de unión a TL1A (tardío)	Notas
1		x	400	10	59	590	Anticuerpo diluido a 2 ug/ml, tiempo de captura variable
2	x		1000	10	44	220	Sobrenadante diluido en tampón de ejecución, tiempos de captura variables
2		x	400	10	44	590	Anticuerpo diluido 2 ug/ml, tiempo de captura variable
3	x		variable	10	59	590	Sobrenadante diluido en tampón de ejecución, 60 s de captura
4		x	500	5	44	220	Anticuerpo diluido a 2 ug/ml en tampón de ejecución
5	x		100	5	44	220	Sobrenadante diluido en tampón de ejecución,
6		x	variable	5	44	170	Anticuerpo diluido a 2 ug/ml en tampón de ejecución y capturado durante 45 s
7*		x	400	5	44	220	Anticuerpo diluido a aprox. 2 ug/ml
8		x	400	5	44	590	Anticuerpo diluido a 2 ug/ml, tiempo de captura variable

(continuación)

N.º de ciclo	Sobrenadante	Proteína	Nivel de captura aproximado (UR)	Conc. Muestra de TL1A (ug/ml)	Punto temporal de nivel de unión a TL1A (temprano)	Punto temporal de nivel de unión a TL1A (tardío)	Notas
9		x	400	5	44	590	Anticuerpo diluido a 2 ug/ml, tiempo de captura variable
* Este ciclo se realizó en un Biacore® A100							

La unión de anti-TL1A a TL1A de diferentes especies también se determinó usando RPS. El anticuerpo anti-TL1A se capturó en la superficie de una proteína A. Se hizo fluir TL1A de ser humano, rata, ratón, conejo, cobaya, cerdo, perro, gato o mono cinomolgo sobre la superficie y se midieron las unidades de respuesta.

1.6. Producción de TL1A. Se produjo TL1A humano en el sistema de expresión EXPI293® de mamíferos, usando una construcción de expresión de ADN que codificaba el dominio extracelular (DEC) de TL1A humano con un marcador de HIS y FLAG ubicado en el extremo N. Se generaron otras formas de especies de TL1A en función del listado de secuencias en bases de datos listadas públicamente. Estas se resumen a continuación:

Tabla 2.

Especie de TL1A	Referencia de base de datos pública	SEQ ID NO:
Ser humano	UniProt: O95150	31
Mono cinomolgo	SEQ ID NO: 125 de la publicación de los Estados Unidos n.º 2014/0255302	34
Ratón	UniProt: Q5UBV8	35
Rata	UniProt: Q8K3Y7	36
Cobaya	UniProt: H0VFN8	37
Cat	NCBI: XP_003995828.1	38
Cerdo	UniProt: I3LL00	39
Conejo	UniProt: G1T1T1	40
Perro	UniProt: J9P221	41

El sobrenadante de cultivo que contenía la proteína TL1A secretada se recogió mediante centrifugación a 2000 x g durante 10 minutos para eliminar las células. La proteína TL1A se purificó del sobrenadante usando una columna HISTRAP® HP (GE Healthcare).

Se intercambié el tampón de la proteína eluida a PBS usando una columna de uso en preparación HILOAD® 16/60 Superdex 200 (GE Healthcare) y la fracción de ~70 kDa se separó por filtración en gel en una columna de uso en preparación HILOAD® 26/60 SUPERDEX® 200 (GE Healthcare).

1.7. Ensayo de potencia de línea celular TF-1. Para determinar qué anticuerpos anti-TL1A neutralizan funcionalmente la actividad biológica de TL1A, se evaluó la capacidad de los anticuerpos para neutralizar la apoptosis inducida por TL1A en una línea celular TF-1. La línea celular eritroleucémica humana TF-1 (ATCC: CRL-2003) se mantuvo en cultivo en condiciones convencionales. Se incubaron células TF-1 ( $7,5 \times 10^4$ /pocillo) en placas de 96 pocillos de laterales negros (Greiner) con TL1A humano 100 ng/ml y cicloheximida 10 mg/ml para inducir apoptosis. Se añadieron anticuerpos de prueba a una concentración de 10 mg/ml (66,7 nM) o menos a las placas y se incubaron durante 4 a 5 horas. Después se evaluó la inducción de apoptosis utilizando el kit de caspasas homogéneas (Roche) según las instrucciones del fabricante.

Los datos se normalizaron mediante expresión como un porcentaje de apoptosis máxima (niveles de apoptosis logrados por TL1A humano más cicloheximida en ausencia de anticuerpo anti-TL1A).

1.8. Selectividad del receptor de anticuerpos candidatos. TL1A se une tanto a su receptor de señalización afín, DR3, como a un receptor señuelo, DcR3, que también actúa como receptor señuelo para los miembros de la familia de TNF Fas-L y LIGHT. Se evaluó la capacidad de los anticuerpos para inhibir la unión de TL1A a sus receptores en un ELISA de competición. Se aplicó quimera DR3/Fc (R&D Systems) o quimera DcR3/Fc (R&D Systems) sobre una placa de 96 pocillos (Maxisorp, Nunc) a una concentración de 2 mg/ml. Se preincubaron anticuerpos de prueba diluidos en serie con TL1A humano biotinilado de un solo sitio 1 mg/ml durante 30 minutos y después se añadieron a los pocillos recubiertos con DR3/Fc o DcR3/Fc. Se detectó TL1A unido usando estreptavidina-peroxidasa de rábano picante 1:2000 (BD Pharmingen). Los datos se normalizaron mediante expresión como un porcentaje de unión máxima de

TL1A al receptor en ausencia de anticuerpo anti-TL1A.

1.9. Ensayo de exclusión cinética. Este ensayo mide la concentración libre de uno de los compañeros de unión sin alterar el equilibrio. Se pueden preparar soluciones fuera de línea, usando proteínas no modificadas en solución, y las mediciones de afinidad se pueden leer días después de la mezcla para asegurar que se haya alcanzado el equilibrio.

En un ensayo de exclusión cinética, un interactuante (denominado compañero de unión constante o CBP) se mantiene a una concentración constante, mientras que el otro (denominado valorante) se diluye en serie. Se pueden usar ensayos de exclusión cinética para determinar la constante de disociación ( $K_D$ ) y la afinidad de una interacción de anticuerpo-antígeno. En un ensayo de exclusión cinética típico, el valorante se inmoviliza en perlas (p. ej., perlas de Sepharose o PMMA) y se usa para capturar el CBP libre en solución. Después se usa una sonda secundaria marcada para cuantificar la cantidad de CBP capturado. El ensayo de exclusión cinética se revisa en Darling, RK *et al.* (2004) ASSAY and Drug Development Technol. 2 (6): 647-57.

Los componentes se combinaron y se permitió que alcanzaran el equilibrio. El ensayo de exclusión cinética se usó después para medir la fracción libre del CBP. Las curvas en equilibrio con múltiples concentraciones de CBP se analizaron utilizando la herramienta de análisis de curvas dentro del software KinExA® Pro (versión 4.1.11, Sapidyne) para obtener determinaciones robustas de  $K_D$ . La interacción de 320-587 para TL1A humano se examinó utilizando dos orientaciones: (1) CBP es 320-587, el valorante es TL1A y (2) CBP es TL1A, el valorante es 320-587.

### Ejemplo 2

#### Resultados experimentales

2.1. Selección de variantes de unión a TL1A con una tasa de inactivación equivalente o mejorada en relación con C320-179. Se construyeron variantes del antibiótico 320-179 y se expresaron como se ha descrito anteriormente. Los sobrenadantes EXPI293® (Life Technologies Corp.) de cada variante se evaluaron mediante BIACORE® (GE Healthcare) y los datos obtenidos se compararon con los del anticuerpo original 320-179. En algunos experimentos, los anticuerpos se purificaron usando cromatografía de proteína A (véase 1.4) y los anticuerpos purificados se usaron en experimentos de BIACORE® (GE Healthcare). Las tablas 3-11 muestran el nivel de expresión de cada variante, junto con su unión a TL1A en un punto temporal temprano y tardío. En ciclos posteriores (tablas 10 y 11) se probaron variantes de anticuerpos que contenían más de una sustitución de aminoácidos.

Tabla 3. Experimento de RPS - Ciclo 1 - Anticuerpos anti-TL1A que se unen a TL1A. \* indica anticuerpos que se seleccionaron para la prueba de ensayo de potencia.

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Anticuerpo purificado		
320-179	Ninguna	Ninguna	410	140	117
320-184*	Ninguna	L79A	414	141	118
320-185*	Ninguna	L79S	401	137	114
320-186*	Ninguna	L79Q	398	136	113
320-187*	Ninguna	L79D	388	134	112
320-188*	Ninguna	L79H	397	136	113
320-189*	Ninguna	L79K	393	130	107
320-190*	Ninguna	L79W	395	136	113
320-191*	Ninguna	L79Y	408	140	117

Tabla 4. Experimento de RPS - Ciclo 2 - Anticuerpos anti-TL1A que se unen a TL1A. \* indica anticuerpos que se seleccionaron para la prueba de ensayo de potencia.

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
				Sobrenadante			Anticuerpo purificado	
320-179	Ninguna	Ninguna	1133	287	261	410	140	117

ES 2 810 751 T3

(continuación)

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)		Nivel de unión a TL1A (tardío)	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
				Sobrenadante				Anticuerpo purificado	
320-192	Ninguna	T24A	960	238		218	-	-	-
320-193	Ninguna	T24S	990	249		227	409	103	91
320-194	Ninguna	T24Q	974	247		226	398	76	64
320-195	Ninguna	T24D	992	249		227	-	-	-
320-196	Ninguna	T24H	995	250		228	-	-	-
320-197	Ninguna	T24K	1017	255		232	401	105	94
320-198*	Ninguna	T24L	1023	262		241	-	-	-
320-199	Ninguna	T24W	1050	251		233	404	97	85
320-200	Ninguna	T24Y	1027	251		231			
320-201*	Ninguna	S25A	990	274		252	393	73	57
320-202*	Ninguna	S25Q	1034	234		214	-	-	-
320-203	Ninguna	S25D	977	61		24	407	65	35
320-204	Ninguna	S25H	1003	193		155	-	-	-
320-205*	Ninguna	S25K	1025	290		271	401	70	51
320-206	Ninguna	S25L	1000	257		235	-	-	-
320-207*	Ninguna	S25W	1022	268		243	-	-	-
320-208	Ninguna	S25Y	1034	222		199	-	-	-
320-209*	Ninguna	S26A	1007	222		200	-	-	-
320-210	Ninguna	S26Q	1033	225		202	-	-	-
320-211*	Ninguna	S26D	1025	206		164	392	80	64
320-212	Ninguna	S26H	1013	226		205	-	-	-
320-213*	Ninguna	S26K	1052	218		194	422	79	65
320-214	Ninguna	S26L	1038	221		196	-	-	-
320-215	Ninguna	S26W	1021	220		199	-	-	-
320-216	Ninguna	S26Y	1010	171		147	-	-	-
320-217	Ninguna	S27A	1076	258		235	-	-	-
320-218	Ninguna	S27Q	1081	239		218	412	92	80
320-219*	Ninguna	S27D	1061	243		220	-	-	-
320-220	Ninguna	S27H	1049	253		230	-	-	-
320-221	Ninguna	S27K	1063	225		207	413	99	89
320-222	Ninguna	S27L	1037	156		96	-	-	-
320-223	Ninguna	S27W	1061	143		66	-	-	-
320-224	Ninguna	S27Y	1055	198		153	-	-	-
320-225	Ninguna	S27aA	1066	267		243	-	-	-

ES 2 810 751 T3

(continuación)

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)		Nivel de unión a TL1A (tardío)	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
				Sobrenadante				Anticuerpo purificado	
320-226*	Ninguna	S27aQ	1035	250		228	-	-	-
320-227	Ninguna	S27aD	1022	242		218	-	-	-
320-228	Ninguna	S27aH	1072	259		235	-	-	-
320-229*	Ninguna	S27aK	1057	268		251	-	-	-
320-230	Ninguna	S27aL	1087	245		223	-	-	-
320-231	Ninguna	S27aW	1078	271		243	-	-	-
320-232	Ninguna	S27aY	1051	261		235	-	-	-
320-233	Ninguna	D27bA	1118	255		235	409	48	16
320-234	Ninguna	D27bS	1089	262		239	-	-	-
320-235	Ninguna	D27bQ	1110	256		236	-	-	-
320-236	Ninguna	D27bH	1085	254		232	415	5	6
320-237	Ninguna	D27bK	1073	240		221	398	10	8
320-238	Ninguna	D27bL	1106	221		191	-	-	-
320-239	Ninguna	D27bW	1079	212		163	-	-	-
320-240	Ninguna	D27bY	1089	230		196	-	-	-
320-241*	Ninguna	I27cA	1092	179		122	-	-	-
320-242	Ninguna	I27cS	1076	124		49	-	-	-
320-243	Ninguna	I27cQ	1065	71		26	-	-	-
320-244*	Ninguna	I27cD	1083	21		20	-	-	-
320-245*	Ninguna	I27cH	1084	59		26	-	-	-
320-246	Ninguna	I27cK	1089	32		23	-	-	-
320-247	Ninguna	I27cL	1078	205		162	-	-	-
320-248	Ninguna	I27cW	1110	96		30	-	-	-
320-249	Ninguna	I27cY	1096	77		28	-	-	-
320-250	Ninguna	G28A	1104	180		115	-	-	-
320-251	Ninguna	G28S	1085	134		50	-	-	-

Tabla 5. Experimento de RPS - Ciclo 3 - Anticuerpos anti-TL1A que se unen a TL1A. \* indica anticuerpos que se seleccionaron para la prueba de ensayo de potencia.

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Sobrenadante		
320-252	Ninguna	G28Q	996	20	9
320-253	Ninguna	G28D	1073	6	6
320-254	Ninguna	G28H	1021	17	8

ES 2 810 751 T3

(continuación)

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Sobrenadante		
320-255	Ninguna	G28K	842	24	8
320-256	Ninguna	G28L	1055	30	10
320-257	Ninguna	G28W	981	83	18
320-258	Ninguna	G28Y	823	9	6
320-259	Ninguna	A29S	824	194	179
320-260	Ninguna	A29Q	836	182	165
320-261	Ninguna	A29D	956	86	29
320-262	Ninguna	A29H	891	209	190
320-263*	Ninguna	A29K	848	121	123
320-264	Ninguna	A29L	831	199	184
320-265	Ninguna	A29W	1057	168	69
320-266	Ninguna	A29Y	934	218	192
320-267*	Ninguna	G30A	1148	299	297
320-268	Ninguna	G30S	392	28	7
320-269	Ninguna	G30Q	764	126	93
320-270	Ninguna	G30D	511	9	5
320-271	Ninguna	G30H	1067	106	30
320-272	Ninguna	G30K	935	5	5
320-273	Ninguna	G30L	710	4	4
320-274	Ninguna	G30W	796	12	7
320-275	Ninguna	G30Y	751	44	10
320-276	Ninguna	L31A	1273	244	215
320-277*	Ninguna	L31S	1741	387	361
320-278*	Ninguna	L31Q	1696	389	374
320-279	Ninguna	L31D	561	144	128
320-280*	Ninguna	L31H	881	228	211
320-281	Ninguna	L31K	321	22	6
320-282	Ninguna	L31W	811	75	16
320-283	Ninguna	L31Y	317	2	3
320-284	Ninguna	G32A	374	1	2
320-285	Ninguna	G32S	400	1	2
320-286	Ninguna	G32Q	576	1	4
320-287	Ninguna	G32D	339	0	2
320-288	Ninguna	G32H	422	1	3
320-289	Ninguna	G32K	463	1	3

ES 2 810 751 T3

(continuación)

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Sobrenadante		
320-290	Ninguna	G32L	361	1	2
320-291	Ninguna	G32W	414	2	3
320-292	Ninguna	G32Y	423	111	94
320-293	Ninguna	V33A	421	104	86
320-294	Ninguna	V33S	419	79	61
320-295	Ninguna	V33Q	414	109	94
320-296	Ninguna	V33D	428	118	104
320-297*	Ninguna	V33H	420	95	77
320-298	Ninguna	V33K	416	114	100
320-299	Ninguna	V33L	420	51	13
320-300	Ninguna	H34W	417	111	95
320-301	Ninguna	H34Y	456	108	96
320-302*	Ninguna	H34A	423	99	74
320-303	Ninguna	H34S	408	71	32
320-304	Ninguna	H34Q	401	103	82
320-305	Ninguna	H34D	424	34	10
320-306	Ninguna	H34K	452	147	133
320-307*	Ninguna	H34L	873	216	200
320-308	Ninguna	H34W	458	106	73
320-309	Ninguna	H34Y	255	47	40
320-310	Ninguna	Q89A	348	70	62
320-311	Ninguna	Q89S	0	0	0

Tabla 6. Experimento de RPS - Ciclo 4 - Anticuerpos anti-TL1A que se unen a TL1A. \* indica anticuerpos que se seleccionaron para la prueba de ensayo de potencia.

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Anticuerpo purificado		
320-179	Ninguna	Ninguna	616	177	163
320-312	Ninguna	Q89D	529	10	10
320-313*	Ninguna	Q89H	502	141	132
320-314*	Ninguna	Q89K	598	165	158
320-315	Ninguna	Q89L	515	85	82
320-316	Ninguna	Q89W	535	65	62
320-317	Ninguna	Q89Y	570	86	83
320-318*	Ninguna	S90A	578	160	149

ES 2 810 751 T3

(continuación)

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Anticuerpo purificado		
320-319	Ninguna	S90Q	523	18	14
320-320	Ninguna	S90D	534	31	17
320-321	Ninguna	S90H	491	16	13
320-322	Ninguna	S90K	450	17	14
320-323	Ninguna	S90W	490	14	13
320-324	Ninguna	S90Y	528	13	12
320-325	Ninguna	Y91A	491	95	83
320-326*	Ninguna	Y91S	550	126	120
320-327	Ninguna	Y91Q	493	130	119
320-328*	Ninguna	Y91H	542	155	146
320-329	Ninguna	Y91K	600	9	11
320-330	Ninguna	Y91L	600	139	119
320-331*	Ninguna	Y91W	615	173	176
320-332	Ninguna	D92A	531	66	44
320-333	Ninguna	D92S	559	95	67
320-334	Ninguna	D92Q	543	15	14
320-335	Ninguna	D92H	581	15	14
320-336	Ninguna	D92K	484	11	11
320-337	Ninguna	D92L	475	21	15
320-338	Ninguna	D92W	548	9	11
320-339	Ninguna	D92Y	509	10	11
320-340	Ninguna	G93A	548	145	132
320-341	Ninguna	G93S	560	149	135
320-342	Ninguna	G93Q	560	152	139
320-343	Ninguna	G93D	545	121	90
320-344	Ninguna	G93H	529	117	87
320-345*	Ninguna	G93K	637	163	154
320-346	Ninguna	G93L	526	126	107
320-347	Ninguna	G93W	560	149	130
320-348	Ninguna	G93Y	541	144	127
320-349	Ninguna	T94A	556	112	88
320-350	Ninguna	T94S	502	130	118
320-351	Ninguna	T94Q	553	112	83
320-352	Ninguna	T94D	568	101	63
320-353	Ninguna	T94H	558	97	73

ES 2 810 751 T3

(continuación)

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Anticuerpo purificado		
320-354	Ninguna	T94K	536	53	30
320-355	Ninguna	T94L	526	102	76
320-356	Ninguna	T94W	486	109	86
320-357	Ninguna	T94Y	563	119	91
320-358	Ninguna	L95A	501	82	50
320-359	Ninguna	L95S	503	57	27
320-360	Ninguna	L95Q	554	86	53
320-361*	Ninguna	L95D	477	12	11
320-362	Ninguna	L95H	522	8	9
320-363	Ninguna	L95Y	566	17	16
320-364	Ninguna	S95aA	516	124	109
320-365	Ninguna	S95aQ	536	141	128
320-366	Ninguna	S95aD	487	62	31
320-367	Ninguna	S95aH	595	119	116
320-368	Ninguna	S95aK	602	50	26
320-369	Ninguna	S95aL	503	89	60
320-370	Ninguna	S95aW	570	66	39
320-371	Ninguna	S95aY	576	92	70

Tabla 7. Experimento de RPS - Ciclo 5 - Anticuerpos anti-TL1A que se unen a TL1A.

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Sobrenadante		
320-179	Ninguna	Ninguna	83	11	10
320-372	Ninguna	A96S	106	1	0
320-373	Ninguna	A96Q	99	-1	-1
320-374	Ninguna	A96D	98	1	0
320-375	Ninguna	A96H	108	-2	-1
320-376	Ninguna	A96K	98	3	1
320-377	Ninguna	A96L	101	-1	-1
320-378	Ninguna	A96W	105	-1	-1
320-379	Ninguna	A96Y	105	3	1
320-380	Ninguna	L97A	104	1	1
320-381	Ninguna	L97S	97	3	1
320-382	Ninguna	L97Q	106	0	0

ES 2 810 751 T3

(continuación)

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Sobrenadante		
			Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
320-383	Ninguna	L97D	102	3	1
320-384	Ninguna	L97H	98	3	2
320-385	Ninguna	L97K	108	1	1
320-386	Ninguna	L97W	104	1	0
320-387	Ninguna	L97Y	97	11	10
320-388	G26A	Ninguna	110	14	13
320-389	G26S	Ninguna	105	12	11
320-390	G26Q	Ninguna	100	12	11
320-391	G26D	Ninguna	106	14	13
320-392	G26H	Ninguna	109	12	11
320-393	G26K	Ninguna	100	12	11
320-394	G26L	Ninguna	106	13	12
320-395	G26W	Ninguna	104	13	12
320-396	G26Y	Ninguna	104	12	11
320-397	Y27A	Ninguna	109	12	12
320-398	Y27S	Ninguna	110	12	11
320-399	Y27Q	Ninguna	105	10	10
320-400	Y27D	Ninguna	106	11	11
320-401	Y27H	Ninguna	100	11	10
320-402	Y27L	Ninguna	98	11	10
320-403	Y27W	Ninguna	84	11	10
320-404	T28A	Ninguna	84	11	10
320-405	T28S	Ninguna	79	10	9
320-406	T28Q	Ninguna	82	8	7
320-407	T28D	Ninguna	88	12	11
320-408	T28H	Ninguna	81	13	12
320-409	T28K	Ninguna	83	10	10
320-410	T28L	Ninguna	86	11	10
320-411	T28W	Ninguna	82	10	9
320-412	T28Y	Ninguna	89	10	9
320-413	F29A	Ninguna	89	9	8
320-414	F29S	Ninguna	78	7	7
320-415	F29Q	Ninguna	85	5	4
320-416	F29D	Ninguna	81	9	8
320-417	F29H	Ninguna	85	9	8

ES 2 810 751 T3

(continuación)

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Sobrenadante		
320-418	F29K	Ninguna	85	10	9
320-419	F29L	Ninguna	83	11	9
320-420	F29W	Ninguna	85	11	10
320-421	F28Y	Ninguna	81	9	8
320-422	T30A	Ninguna	80	10	9
320-423	T30S	Ninguna	86	10	10
320-424	T30Q	Ninguna	86	11	10
320-425	T30D	Ninguna	89	14	12
320-426	T30H	Ninguna	84	10	9
320-427	T30K	Ninguna	88	11	10
320-428	T30L	Ninguna	88	11	10
320-429	T30W	Ninguna	90	12	11
320-430	T30Y	Ninguna	85	6	6
320-431	S31A	Ninguna	85	6	6

Tabla 8. Experimento de RPS - Ciclo 6 - Anticuerpos anti-TL1A que se unen a TL1A. \* indica anticuerpos que se seleccionaron para la prueba de ensayo de potencia.

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Anticuerpo purificado		
320-179	Ninguna	Ninguna	449	111	102
320-432	S31Q	Ninguna	466	116	106
320-433	S31D	Ninguna	412	90	83
320-434	S31K	Ninguna	473	125	113
320-435	S31L	Ninguna	384	92	83
320-436	S31W	Ninguna	525	129	118
320-437	S31Y	Ninguna	501	119	109
320-438	Y32A	Ninguna	468	126	116
320-439	Y32S	Ninguna	464	119	108
320-440	Y32Q	Ninguna	408	108	97
320-441	Y32D	Ninguna	388	80	67
320-442	Y32H	Ninguna	490	124	113
320-443*	Y32K	Ninguna	438	114	103
320-444	Y32L	Ninguna	458	107	95
320-445*	Y32W	Ninguna	442	116	106

ES 2 810 751 T3

(continuación)

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Anticuerpo purificado		
320-446	D33A	Ninguna	469	18	8
320-447	D33S	Ninguna	503	37	13
320-448	D33Q	Ninguna	482	7	6
320-449	D33H	Ninguna	483	76	59
320-450	D33K	Ninguna	536	1	3
320-451	D33L	Ninguna	497	19	8
320-452	D33W	Ninguna	445	84	78
320-453	D33Y	Ninguna	449	111	104
320-454	I34A	Ninguna	189	43	37
320-455	I34S	Ninguna	144	27	23
320-456	I34Q	Ninguna	214	52	46
320-457	I34D	Ninguna	55	6	4
320-458	I34H	Ninguna	239	59	53
320-459	I34K	Ninguna	93	20	17
320-460	I34L	Ninguna	441	114	105
320-461	I34W	Ninguna	465	87	82
320-462	I34Y	Ninguna	373	58	52
320-463*	N35A	Ninguna	462	102	101
320-464*	N35S	Ninguna	600	130	124
320-465	N35Q	Ninguna	476	92	78
320-466	N35D	Ninguna	360	93	86
320-467	N35H	Ninguna	350	44	24
320-468	N35K	Ninguna	200	2	2
320-469	N35L	Ninguna	315	69	61
320-470	N35W	Ninguna	329	2	3
320-471	N35Y	Ninguna	312	3	4
320-472	Ninguna	S90L	467	23	10
320-473	Ninguna	Y91D	453	69	55
320-474	Ninguna	L95K	596	2	4
320-475	Ninguna	L95W	727	8	8
320-476	Y27K	Ninguna	560	128	118
320-477*	S31H	Ninguna	576	148	136
320-478	A60L	Ninguna	379	85	77
320-479	A60W	Ninguna	277	61	54
320-480	A60Y	Ninguna	319	79	73

(continuación)

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Anticuerpo purificado		
320-483	W50A	Ninguna	492	4	6
320-484	W50S	Ninguna	555	3	6
320-485	W50Q	Ninguna	460	3	5
320-486	W50D	Ninguna	178	1	2
320-487	W50H	Ninguna	237	2	3
320-488	W50K	Ninguna	293	1	2
320-489	W50L	Ninguna	337	4	5
320-490	W50Y	Ninguna	393	14	8
320-491	L51S	Ninguna	356	85	76

Tabla 9. Experimento de RPS - Ciclo 7 - Anticuerpos anti-TL1A que se unen a TL1A. \* indica anticuerpos que se seleccionaron para la prueba de ensayo de potencia.

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Anticuerpo purificado		
320-179	Ninguna	Ninguna	301	61	56
320-492	L51Q	Ninguna	439	89	82
320-493	L51D	Ninguna	242	48	46
320-494	L51H	Ninguna	811	150	138
320-495	L51K	Ninguna	466	84	77
320-496	L51W	Ninguna	581	93	87
320-497	N52A	Ninguna	727	135	125
320-498	N52S	Ninguna	485	90	82
320-499	N52Q	Ninguna	551	122	113
320-500	N52D	Ninguna	472	69	53
320-501	N52H	Ninguna	533	118	108
320-502	N52K	Ninguna	659	88	59
320-503	N52W	Ninguna	484	41	6
320-504	N52Y	Ninguna	500	88	65
320-505	P52aA	Ninguna	570	118	110
320-506	P52aS	Ninguna	444	97	89
320-507	P52aQ	Ninguna	181	27	24
320-508	P52aD	Ninguna	203	19	12
320-509	P52aH	Ninguna	290	52	47
320-510	P52aK	Ninguna	289	44	33

ES 2 810 751 T3

(continuación)

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Anticuerpo purificado		
320-511	P52aL	Ninguna	581	106	98
320-512	P52aW	Ninguna	746	126	118
320-513	P52aY	Ninguna	585	99	90
320-514	N53A	Ninguna	516	96	88
320-515	N53S	Ninguna	375	73	67
320-516	N53Q	Ninguna	461	92	86
320-517	N53D	Ninguna	493	55	50
320-518	N53H	Ninguna	882	169	153
320-519	N53K	Ninguna	993	217	196
320-520	N53L	Ninguna	1016	174	162
320-521	N53W	Ninguna	830	166	152
320-522	N53Y	Ninguna	693	141	129
320-523	S54A	Ninguna	476	88	82
320-524	S54Q	Ninguna	292	55	49
320-525	S54D	Ninguna	437	33	17
320-526	S54H	Ninguna	672	134	124
320-527	S54K	Ninguna	578	146	136
320-528	S54L	Ninguna	829	121	108
320-529	S54W	Ninguna	605	94	83
320-530	S54Y	Ninguna	425	77	67
320-531	G55A	Ninguna	331	66	61
320-532	G55S	Ninguna	648	10	7
320-533	G55Q	Ninguna	441	93	86
320-534	G55D	Ninguna	647	109	102
320-535	G55H	Ninguna	637	126	115
320-536	G55K	Ninguna	553	115	105
320-537	G55L	Ninguna	717	133	123
320-538	G55W	Ninguna	318	54	49
320-539	N56A	Ninguna	859	172	159
320-540	N56S	Ninguna	500	100	92
320-541	N56Q	Ninguna	504	94	84
320-542	N56D	Ninguna	839	97	86
320-543	N56H	Ninguna	597	138	126
320-544	N56K	Ninguna	690	120	112
320-545	N56L	Ninguna	518	109	100

ES 2 810 751 T3

(continuación)

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Anticuerpo purificado		
320-546	N56W	Ninguna	341	67	61
320-547*	N56Y	Ninguna	318	77	75
320-548	T57A	Ninguna	335	74	68
320-549	T57S	Ninguna	269	50	45
320-550	T57Q	Ninguna	635	112	103
320-551	T57D	Ninguna	280	44	36
320-552	T57H	Ninguna	595	104	97
320-553	T57K	Ninguna	494	84	78
320-554	T57L	Ninguna	506	66	51
320-555	T57W	Ninguna	674	62	30
320-556	T57Y	Ninguna	634	100	90
320-557	G58A	Ninguna	378	26	6
320-558	G58S	Ninguna	463	3	2
320-559	G58Q	Ninguna	535	9	5
320-560	G58D	Ninguna	907	36	9
320-561	G58H	Ninguna	539	14	6
320-562	G58K	Ninguna	326	2	1
320-563	G58L	Ninguna	258	2	2
320-564	G58W	Ninguna	345	72	67
320-565	G58Y	Ninguna	545	43	12
320-566	Y59A	Ninguna	720	120	110
320-567	Y59S	Ninguna	590	96	86
320-568	Y59Q	Ninguna	688	115	107
320-569	Y59D	Ninguna	408	79	73
320-570	Y59H	Ninguna	435	79	72
320-571	Y59K	Ninguna	394	78	72
320-572	A60S	Ninguna	459	98	90
320-573	A60Q	Ninguna	338	67	62
320-574	A60D	Ninguna	693	140	130
320-575	A60H	Ninguna	581	121	110
320-576	A60K	Ninguna	479	90	83
320-577	L51A	Ninguna	479	98	90
320-578	L51Y	Ninguna	415	83	77
320-579	N52L	Ninguna	214	46	41
320-580	G55Y	Ninguna	261	51	47

(continuación)

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Anticuerpo purificado		
320-581	Y59L	Ninguna	337	70	65
320-582	Y59W	Ninguna	453	67	52

Tabla 10. Experimento de RPS - Ciclo 8 - Anticuerpos anti-TL1A que se unen a TL1A. \* indica anticuerpos que se seleccionaron para la prueba de ensayo de potencia.

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Anticuerpo purificado		
320-179	Ninguna	Ninguna	402	98	86
320-583*	Ninguna	G30A, Y91W	404	108	103
320-584*	Ninguna	L31S, Y91W	399	103	98
320-585*	Ninguna	L31Q, Y91W	406	116	109
320-586*	Ninguna	H34L, Y91W	405	108	103
320-587*	N56Y	Y91W	402	123	122
320-588*	N56Y	G30A	409	128	123
320-589*	N56Y	L31S	399	120	109
320-590*	N56Y	L31Q	405	130	121
320-591*	N56Y	H34L	399	132	124
320-592*	N56Y	G30A, Y91W	408	128	129
320-593*	N56Y	L31S, Y91W	405	126	124
320-594*	N56Y	L31Q, Y91W	407	134	132
320-595*	N56Y	H34L, Y91W	403	129	128

5 Tabla 11. Experimento de RPS - Ciclo 9 - Anticuerpos anti-TL1A que se unen a TL1A. \* indica anticuerpos que se seleccionaron para la prueba de ensayo de potencia.

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Anticuerpo purificado		
320-179	Ninguna	Ninguna	402	108	98
320-596	Ninguna	Y91F	405	95	85
320-597	Ninguna	L31Q, Y91F	401	115	105
320-598	Ninguna	H34L, Y91F	403	112	101
320-599	Ninguna	L31S, Y91F	411	113	103
320-600	Ninguna	G30A, Y91F	399	111	104
320-601*	N56Y	Y91F	409	121	120
320-602	N56Y	L31Q, Y91F	399	131	125
320-603	N56Y	H34L, Y91F	394	126	118

(continuación)

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Nivel de captura	Nivel de unión a TL1A (temprano)	Nivel de unión a TL1A (tardío)
			Anticuerpo purificado		
320-605	N56Y	G30A, Y91F	399	125	120
320-611*	N56Y	Y91W, G93K	397	125	127
320-612	Ninguna	Y91W, G93Y	400	126	120
320-613*	N56Y	Y91W, G93Y	408	135	131
320-614	N56Y	G93K	401	122	111
320-615	N56Y	G93Y	393	113	108
320-616	N56Y	G93A	396	120	112

Los anticuerpos que tenían niveles de captura similares o mejores que 320-179, así como valores de nivel de unión a TL1A (temprano) y nivel de unión a TL1A (tardío) que estaban en un rango similar se llevaron a ensayos de potencia. Estas variantes se indican por sombreado en las tablas 3-11. En la figura 5 se muestra una comparación de la velocidad de disociación medida mediante RPS para varios de los anticuerpos. Varios de los anticuerpos se disociaron a una velocidad más lenta que la del anticuerpo original 320-179.

2.2 Anticuerpos anti-TL1A con potencia mejorada en el ensayo basado en células. Para evaluar si la velocidad de disociación mejorada se correlacionaba con un anticuerpo purificado de potencia mejorada, las variantes se procesaron en el ensayo de actividad caspasa inducida por TL1A en células TF-1. Los anticuerpos potentes actúan uniéndose a TL1A e inhibiendo la activación de TL1A del receptor DR3. Este receptor desencadena una ruta de apoptosis en la que las caspasas se activan y pueden detectarse utilizando reactivos comerciales. En cada experimento, la variante de anticuerpo se comparó con 320-179 con respecto al factor de mejora de la potencia. Los resultados se muestran en la tabla 12.

Tabla 12. Ensayo de potencia de caspasa inducida por TL1A en células TF-1: Inhibición por anticuerpos anti-TL1A.

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	Cl <sub>50</sub> del anticuerpo (µg/ml)	Cl <sub>50</sub> de 320-179 (µg/ml)	Factor de mejora
320-184	Ninguna	L79A	0,010	0,030	3
320-185	Ninguna	L79S	0,020	0,030	2
320-186	Ninguna	L79Q	0,030	0,030	1
320-187	Ninguna	L79D	0,020	0,040	2
320-188	Ninguna	L79H	0,010	0,040	4
320-189	Ninguna	L79K	0,110	0,040	0
320-190	Ninguna	L79W	0,020	0,040	2
320-191	Ninguna	L79Y	0,020	0,040	2
320-198	Ninguna	T24L	0,010	0,010	1
320-201	Ninguna	S25A	0,005	0,010	2
320-202	Ninguna	S25Q	0,010	0,010	1
320-205	Ninguna	S25K	0,020	0,030	2
320-207	Ninguna	S25W	0,007	0,020	3
320-209	Ninguna	S26A	0,040	0,020	1
320-211	Ninguna	S26D	0,010	0,030	3

ES 2 810 751 T3

(continuación)

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	CI50 del anticuerpo (µg/ml)	CI50 de 320-179 (µg/ml)	Factor de mejora
320-213	Ninguna	S26K	0,070	0,030	0
320-219	Ninguna	S27D	0,020	0,030	2
320-226	Ninguna	S27aQ	0,030	0,020	1
320-229	Ninguna	S27aK	0,040	0,060	2
320-241	Ninguna	I27cA	0,020	0,010	1
320-244	Ninguna	I27cD	5,030	0,010	0
320-245	Ninguna	I27cH	0,540	0,010	0
320-263	Ninguna	A29K	0,003	0,010	3
320-267	Ninguna	G30A	0,010	0,040	4
320-277	Ninguna	L31S	0,003	0,010	3
320-278	Ninguna	L31Q	0,010	0,020	2
320-280	Ninguna	L31H	0,006	0,020	3
320-297	Ninguna	V33H	0,005	0,020	4
320-302	Ninguna	H34A	0,010	0,020	2
320-307	Ninguna	H34L	0,010	0,040	4
320-313	Ninguna	Q89H	0,020	0,030	2
320-314	Ninguna	Q89K	0,020	0,030	2
320-318	Ninguna	S90A	0,020	0,050	3
320-326	Ninguna	Y91S	0,030	0,050	2
320-328	Ninguna	Y91H	0,020	0,020	1
320-331	Ninguna	Y91W	0,002	0,020	10
320-345	Ninguna	G93K	0,020	0,010	1
320-361	Ninguna	L95D	0,010	0,010	1
320-443	Y32K	Ninguna	0,060	0,060	1
320-445	Y32W	Ninguna	0,030	0,060	2
320-463	N35A	Ninguna	0,020	0,050	3
320-464	N35S	Ninguna	0,030	0,050	2
320-477	S31H	Ninguna	0,030	0,040	1
320-547	N56Y	Ninguna	0,004	0,040	10
320-583	Ninguna	G30A, Y91W	0,003	0,080	27
320-584	Ninguna	L31S, Y91W	0,008	0,080	10
320-585	Ninguna	L31Q, Y91W	0,003	0,040	13
320-586	Ninguna	H34L, Y91W	0,002	0,050	25
320-587	N56Y	Y91W	0,001	0,040	40
320-588	N56Y	G30A	0,004	0,020	5
320-589	N56Y	L31S	0,020	0,020	1

(continuación)

Anticuerpo	Sustitución de VH con respecto a 320-179	Sustitución de VL con respecto a 320-179	CI50 del anticuerpo (µg/ml)	CI50 de 320-179 (µg/ml)	Factor de mejora
320-590	N56Y	L31Q	0,006	0,020	3
320-591	N56Y	H34L	0,002	0,020	10
320-592	N56Y	G30A, Y91W	0,003	0,020	7
320-593	N56Y	L31S, Y91W	0,004	0,060	15
320-594	N56Y	L31Q, Y91W	0,005	0,060	12
320-595	N56Y	H34L, Y91W	0,003	0,060	20
320-601	N56Y	Y91F	0,002	0,020	10
320-611	N56Y	Y91W, G93K	0,005	0,040	8
320-613	N56Y	Y91W, G93Y	0,010	0,040	4

\*\* Varios de los anticuerpos con factores de mejora de la potencia mayores de mejora en 10 veces se procesaron en hasta n = 7 ensayos. Los resultados fueron coherentes con los datos mostrados en esta tabla. La figura 7 muestra n = 4 repeticiones de varios de los anticuerpos con potencia mejorada en comparación con 320-179.

Como se ha demostrado en la tabla 12 y en la figura 6, varios de los anticuerpos de sustitución única probados tenían potencia superior en comparación con 320-179. De todas las variantes de anticuerpos de sustitución única probadas, dos tuvieron mejora de la potencia mayor de 10 veces en comparación con 320-179. Estas variantes fueron 320-331 (que contenía una sustitución Y91W en la cadena ligera variable) y 320-547 (que contenía una sustitución N56Y en la cadena pesada variable) (figura 6). Este resultado es inesperado, ya que normalmente la CDR3 del VH del anticuerpo está predominantemente implicada en la unión del anticuerpo, mientras que, por el contrario, la sustitución N56Y que se identificó tiene una influencia sustancial en las uniones de CDR2 del VH del anticuerpo. Cuando se realizaron variantes incorporando Y91W del VL o, por separado, N56Y en el VH con otras sustituciones que mejoraron la potencia, se obtuvieron anticuerpos muy potentes. Cuando la sustitución Y91W de VL se combinó con la sustitución N56Y de VH en un anticuerpo, 320-587, el factor de mejora de la potencia en comparación con 320-179 fue de 40. La figura 7 muestra cuatro experimentos repetidos diferentes que demuestran el aumento de potencia de cuatro anticuerpos 320-587, 320-591, 320-592 y 320-601 en comparación con 320-179. Las secuencias de estos anticuerpos con potencia mejorada en comparación con 320-179 se muestran en la figura 3 (cadena pesada variable) y la figura 4 (cadena ligera variable).

Se realizó una comparación de la potencia de 320-587 en comparación con otros anticuerpos anti-TL1A descritos anteriormente. Estos anticuerpos descritos previamente incluyen el anticuerpo 1681N descrito en la patente de los Estados Unidos n.º 8.642.741 (VH es la SEQ ID NO: 18; VL es la SEQ ID NO: 26), el anticuerpo VH5/VL1 de la publicación de los Estados Unidos n.º 2014/0308271 (VH es la SEQ ID NO: 24; VL es la SEQ ID NO: 17), 1B4 humanizado como se describe en la patente de los Estados Unidos n.º 8.263.743 (VH es la SEQ ID NO: 74; VL es la SEQ ID NO: 75) y 320-168 (también denominado C320-168) como se describe en la publicación de los Estados Unidos n.º 2014/0255302A1 (VH es la SEQ ID NO: 181; VL es la SEQ ID NO: 194). La figura 8 muestra que 320.587 tiene potencia superior en el ensayo basado en células en comparación con estos anticuerpos descritos anteriormente, convirtiéndolo en el anticuerpo anti-TL1A más potente descrito.

2.3. Ensayos de competencia del receptor DR3 y DcR3. Los anticuerpos que mostraron mayor potencia en comparación con 320-179, se exploraron para determinar su capacidad para inhibir la unión de TL1A a su receptor de señalización afín, DR3, o un receptor señuelo, DcR3. Todos los anticuerpos anti-TL1A probados mostraron inhibición de la unión de TL1A a DR3, en comparación con un control de isotipo (figura 9). Esto confirma que los anticuerpos inhiben la actividad de TL1A al bloquear la interacción TL1A-DR3.

En experimentos previos descritos en la publicación de los Estados Unidos n.º 2014/0255302A1 (ejemplo 4), el anticuerpo 320-179 (320-179) se probó en un ensayo de competencia del receptor y se mostró que inhibe selectivamente la unión de TL1A a DR3 pero no a DcR3 (figura 10). En los experimentos presentados en el presente documento en la figura 10, se muestra nuevamente que 320-179 no inhibe la interacción TL1A-DcR3. Esto contrasta con los anticuerpos anti-TL1A mejorados probados. Los anticuerpos con potencia mejorada en el ensayo de células TF-1 (como se describe en la sección 2.2), incluyendo el anticuerpo 320-587, inhibieron uniformemente la interacción TL1A-DcR3.

En resumen, el anticuerpo parental 320-179 fue capaz de inhibir la interacción TL1A-DR3 pero no la interacción TL1A-DcR3. Varios anticuerpos con potencia mejorada, tales como 320-267 (VH es la SEQ ID No: 1; VL es la SEQ ID No: 11), 320-277 (VH es la SEQ ID NO: 1, VL es la SEQ ID NO 12), 320-278 (VH es la SEQ ID NO 1; VL es la SEQ ID NO 13) y 320-591 (VH es la SEQ ID NO: 3, VL es la SEQ ID NO 9) inhibieron la interacción TL1a-DR3 pero no la interacción TL1A-DcR3. Varios anticuerpos con potencia mejorada, tales como 320-331, 320-547, 320-583, 320-584, 320-585, 320-586, 320-587 y variantes de estos anticuerpos, son capaces de inhibir las interacciones TL1A-DR3 y TL1A-DcR3.

2.4. La reactividad cruzada entre especies de 320-587 se probó para determinar su capacidad para unirse a TL1A producido de manera recombinante de diferentes especies. El anticuerpo unido a TL1A de todas las especies probadas (figura 11). La unión de 320-587 a TL1A humano, de rata, de cobaya, de perro, de gato y de mono cinomolgo tenía una velocidad de disociación lenta, lo que indica una interacción de alta afinidad. El anticuerpo se unió a TL1A de ratón y conejo y tenía una velocidad de disociación rápida.

2.5. Modelos de eficacia preclínica para probar anticuerpos anti-TL1A en los siguientes modelos animales de enfermedad:

Asma: asma inducida por alérgenos - el roedor (ratón, rata o cobaya) se sensibiliza mediante inyección intradérmica de ovoalbúmina (OVA), especialmente OVA procedente de huevos de gallina, más alumbre y después se expone al menos 2 semanas después mediante aerosol de OVA nebulizado, lo que provoca síntomas de tipo asmático, incluyendo hiperreactividad de las vías respiratorias, afluencia de eosinófilos y aumento de la producción de citocinas (p. ej., Hylkema *et al.*, 2002, Clin. Exp. Immunol. 129: 390-96). Dicho modelo podría modificarse mediante exposición repetida para presentar un perfil de enfermedad más crónico con aumento de la remodelación de las vías respiratorias e inducción de fibrosis (p. ej., Bos *et al.*, 2007, Eur. Respir. J. 30: 653-661). También se pueden usar alérgenos alternativos, tales como ácaros del polvo doméstico (p. ej., Lambert *et al.*, 1998, Am. J. Respir. Crit. Care Med. 157: 1991-9). Como alternativa, un primate no humano (p. ej., macaco cinomolgo) puede sensibilizarse y exponerse con un antígeno ambiental tal como *Ascaris suum*, lo que conduce a hiperreactividad de las vías respiratorias, afluencia de eosinófilos y aumento de la producción de citocinas (p. ej., Wegner *et al.*, 1991, J. Allergy Clin. Immunol. 87: 835-41).

EPOC: Inflamación de las vías respiratorias inducida por inhalación de humo - el roedor (ratón, rata o cobaya) se expondrá a humo de cigarrillo 3-7 veces por semana durante al menos 4 semanas provocando una enfermedad pulmonar similar a la EPOC, caracterizada por la acumulación pulmonar de neutrófilos, aumento de la producción de citocinas inflamatorias, fibrosis pulmonar e hipertensión pulmonar (p. ej., Davis *et al.* (2012) PLoS One 7: e33304). Se puede inducir una forma más grave de enfermedad al incluir una infección bacteriana o vírica repetida en los pulmones durante la exposición al humo (p. ej., Li *et al.* (2012) Biol. Pharm. Bull. 35: 1752-60). Los roedores con EPOC inducida por humo se tratarán con anticuerpos anti-TL1A y se explorarán para determinar la eficacia del tratamiento.

Fibrosis pulmonar: Fibrosis pulmonar inducida por bleomicina - el roedor (ratón, rata o cobaya) se tratará con bleomicina mediante instilación intratraqueal/intranasal o inyección intravenosa una o dos veces por semana durante al menos 3 semanas. Este tratamiento induce fibrosis pulmonar significativa y estable (p. ej., Pinart *et al.* (2009) Resp. Physiol. Neurobiol. 166: 41-46). Los roedores con fibrosis pulmonar inducida por bleomicina se tratarán con anticuerpos anti-TL1A y se explorarán para determinar la eficacia del tratamiento.

Fibrosis quística: Modelo de hurón con supresión de CFTR - los hurones homocigotos para supresión génica, o mutaciones conocidas relacionadas con la enfermedad, de CFTR (gen causante de la fibrosis quística) desarrollan espontáneamente una enfermedad similar a la fibrosis quística caracterizada por la obstrucción de las vías respiratorias por moco, atelectasia, neumonía intersticial e infecciones pulmonares repetidas con colonización bacteriana pulmonar progresiva (p. ej., Sun *et al.* (2014) Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 50: 502-12). Los hurones CFTR<sup>-/-</sup> se tratarán con anticuerpos anti-TL1A y se explorarán para determinar la eficacia del tratamiento.

Síndrome del intestino irritable: Hipersensibilidad visceral inducida por estrés - se inducirá estrés en ratas mediante separación neonatal-materna (p. ej., Coutinho *et al.* (2002) Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 282: G307-16) o inmovilización de adultos (p. ej., Shen *et al.* (2010) J. Neurogastroenterol. Motil. 16: 281-90). Se espera que esto produzca alteración de la motilidad colónica e hipersensibilidad visceral similar a la observada en pacientes con SII. Las ratas estresadas se tratarán con anticuerpos anti-TL1A y se explorarán para determinar la eficacia del tratamiento.

Artritis reumatoide: Artritis inducida por colágeno - el roedor (ratón, rata o cobaya) se inmunizará y se estimulará con colágeno en adyuvante. Los animales desarrollan inflamación y eritema bilaterales del pie, infiltrado inflamatorio en el área articular y daño articular (p. ej., Bendele *et al.* (1999) Toxicol. Pathol. 27: 134-42). Los roedores con artritis inducida por colágeno se tratarán con anticuerpos anti-TL1A y se explorarán para determinar la eficacia del tratamiento.

Esofagitis eosinofílica: Esofagitis eosinofílica inducida por *Aspergillus fumigatus* intranasal. Ratones expuestos a instilación intranasal repetida de *A. fumigatus* desarrollan eosinofilia esofágica notable, displasia e hiperplasia epitelial y gránulos de eosinófilos libres (p. ej., Mishra *et al.* (2001) J. Clin. Invest. 107: 83-90). De manera análoga, la exposición repetida en aerosol a la ovoalbúmina durante un periodo de dos semanas en cobayas sensibilizadas provoca eosinofilia esofágica con infiltración tanto de eosinófilos como de mastocitos en la capa epitelial (p. ej., Liu *et al.* (2015) Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 308: G482-488). Los ratones o cobayas con esofagitis eosinofílica se tratarán con anticuerpos anti-TL1A y se explorarán para determinar la eficacia del tratamiento.

2.6. El uso de anticuerpos TL1A en la detección de muestras que contienen anticuerpos de TL1A de la divulgación se puede usar para detectar TL1A en muestras humanas. Se utilizó 320-587 para detectar TL1A humano secretado de PBMC humanas estimuladas con complejos inmunitarios (figura 13) en formato ELISA. También se utilizó 320-587 para detectar una población de PBMC humanas que expresan TL1A de membrana en su superficie en experimentos de citometría de flujo (figura 14).

2.7. Mediciones de afinidad de la unión del anticuerpo anti-TL1A a TL1A humano mediante ensayo de exclusión cinética. Tiempo para alcanzar el equilibrio con 320-587 como CBP: En primer lugar, se midió la tasa de  $K_{on}$  para la interacción 320-587/TL1A. En resumen, se preparó una solución mezclando 320-587 y TL1A, y se extrajeron alícuotas

en diversos puntos temporales durante 3 horas. Se capturó 320-587 libre haciendo pasar la solución sobre una columna empaquetada con perlas de Sepharose recubiertas con 20 mg/ml de TL1A. Se detectó 320-587 capturado con un anticuerpo anti-humano conjugado con Alexa Fluor® 647 (0,5 mg/ml). Este ensayo se repitió dos veces produciendo tasas de  $K_{on}$  de  $8,35 \times 10^5 \text{ Ms}^{-1}$  y  $7,45 \times 10^5 \text{ Ms}^{-1}$ , con un promedio de tasa de  $K_{on}$  de  $7,90 \times 10^5 \text{ Ms}^{-1}$ . La tasa de  $K_{on}$  se usó después para estimar la cantidad de tiempo necesaria para alcanzar el equilibrio a diversas concentraciones de 320-587 usando la herramienta de curva de unión teórica proporcionada en el sitio web de Sapidyne ([www.Sapidyne.com](http://www.Sapidyne.com)).

Determinación de  $K_D$  con 320-587 como CBP. El CBP, 320-587, se diluyó en tampón de ensayo (DPBS complementado con 1 mg/ml de BSA) a concentraciones finales de 15, 50 y 150 pM. El valorante, TL1A humano se diluyó en tampón de ensayo para crear una serie de concentraciones de 0,1, 0,3, 1, 3, 10, 30, 100, 300, 1000 y 3000 pM. Usando el tiempo para alcanzar el equilibrio determinado anteriormente, se permitió que las curvas que contenían 320-587 50 o 150 pM se equilibraran en una incubadora a 25 °C durante 2 días. Se permitió que las curvas que contenían 320-587 15 pM se equilibraran en una incubadora a 25 °C durante 3 días. Después del periodo de equilibrio, la fracción libre de 320-587 en cada reacción se cuantificó como se ha descrito anteriormente. Los valores de  $K_D$  se determinaron usando análisis de curva n de curvas de equilibrio generadas con 320-587 15, 50 y 150 pM.

Tiempo para alcanzar el equilibrio con TL1A como CBP: El tiempo para alcanzar el equilibrio en esta orientación se estimó usando la  $K_{on}$  para la interacción 320-587/TL1A, determinada como se describe en 2.8 anterior. En este formato, la fracción libre de TL1A se capturó pasando la solución sobre una columna empaquetada con perlas de PMMA recubiertas con 30 mg/ml de 320-587. El TL1A capturado se detectó con un anticuerpo anti 6x-his DyLight 650 (0,75 mg/ml). Este ensayo se repitió dos veces produciendo tasas de  $K_{on}$  de  $6,11 \times 10^5 \text{ Ms}^{-1}$  y  $5,74 \times 10^5 \text{ Ms}^{-1}$ , con un promedio de tasa de  $K_{on}$  de  $5,93 \times 10^5 \text{ Ms}^{-1}$ .

Determinación de  $K_D$  con TL1A como CBP: El CBP, TL1A humano, se diluyó en tampón de ensayo a concentraciones finales de 30, 100 y 300 pM. El valorante, 320-587, se diluyó en tampón de ensayo para crear una serie de concentraciones de 0,05, 0,15, 0,5, 1,5, 5, 15, 50, 150, 500, 1500 y 5000 pM.

Usando el tiempo para alcanzar el equilibrio determinado anteriormente, se permitió que todas las curvas se equilibraran en una incubadora a 25 °C durante 3 días. Después del periodo de equilibrio, la fracción libre de TL1A en cada reacción se cuantificó como se ha descrito anteriormente. Los valores de  $K_D$  se determinaron usando análisis de curva n de curvas de equilibrio generadas con TL1A 30, 100 y 300 pM.

Se observó un buen acuerdo entre los dos métodos KinExA, así como un porcentaje de error relativamente bajo. El valor de  $K_D$  para la interacción de TL1A con 320-587 se determinó usando 320-587 ya que el CBP fue  $40,97 \pm 8,33 \text{ pM}$  (tabla 13), mientras que la  $K_D$  obtenida usando TL1A como el CBP fue  $41,52 \pm 13,5 \text{ pM}$  (tabla 14).

Tabla 13. Afinidad: Perlas de Sepharose recubiertas con TL1A; 320-587 como el CBP.

N.º de ensayo:	KD (pM)	% de error
1	40,43	4,57
2	52,03	5,61
3	46,31	4,76
4	32,42	3,74
5	33,66	3,9
Promedio	40,97	
DT	8,33	
% VC	20	

Tabla 14. Afinidad: Perlas de PMMA recubiertas con 320-587; TL1A como el CBP.

N.º de ensayo:	KD (pM)	% de error
1	33,39	5,33
2	57,1	5,51
3	34,07	3,9
Promedio	41,52	
DT	13,5	
% VC	33	

### 3.0. Modelos preclínicos de eficacia para probar anticuerpos anti-TLLa.

#### 3.0.1. Asma.

Asma aguda inducida por ovoalbúmina en ratas. Se sensibilizaron ratas Brown-Norway con OVA mediante inyección i.p. el día 0 y después se expusieron diariamente con aerosol de OVA los días 35-42. Las ratas se trataron con el anticuerpo 320-587 o vehículo mediante inyección i.v. los días 14, 21, 28 y 35. El líquido de lavado broncoalveolar (BALF) se evaluó para las células totales y diferenciales el día 43. Se encontró que el tratamiento reduce significativamente los eosinófilos BALF (figura 15).

Asma crónica inducida por ovoalbúmina en ratas. Las ratas se sensibilizaron con OVA más alumbre mediante inyección i.p. los días 0 y 7, y después se expusieron con aerosol de OVA dos veces por semana durante 3 semanas a partir del día 14 hasta el día 31, y en 5 días consecutivos desde los días 37 a 42. Los animales se trataron con el anticuerpo 320-587 o vehículo mediante i.v. los días 24, 29, 34 y 39. El BALF se evaluó para determinar células totales y diferenciales y un panel de citocinas el día 43. Las secciones pulmonares se tiñeron con hematoxilina y eosina (H y E) y Schiff de ácido peryódico (PAS), y se evaluaron para determinar una serie de patologías. El tratamiento con 320-587 disminuyó significativamente los eosinófilos y macrófagos en BALF (figuras 17A y 17B), IL-4 e IL-13 en BALF (figura 17C), hiperplasia de células caliciformes (figura 17D) y el grosor de la capa epitelial bronquial (figura 17E), en comparación con el vehículo.

Asma aguda inducida por ovoalbúmina en cobayas. Se sensibilizaron cobayas macho Dunkin Hartley a ovoalbúmina y a continuación se sometieron a cirugía para instalar un catéter de globo para medir la función pulmonar y las reacciones asmáticas tempranas y tardías. Los días 16, 20, 24 y 28, los animales se trataron i.p. con anticuerpo 320-587 o vehículo. Se realizó exposición con aerosol de ovoalbúmina (0,05-0,1 %) 30 minutos después del último tratamiento. La sensibilidad de las vías respiratorias (SVR) a la histamina se midió 24 h antes de la exposición, 6 h después de la exposición (inmediatamente después de la reacción asmática temprana) y 24 h después de la exposición (inmediatamente después de la reacción asmática tardía). La naturaleza y el tamaño de las reacciones asmáticas tempranas y tardías también se registraron mediante el registro en línea de la función pulmonar durante todo el periodo de 24 h. Los animales se sacrificaron 25 h después de la exposición y se realizó lavado broncoalveolar. El BALF se evaluó para determinar las células totales y diferenciales. El tratamiento con 320-587 disminuyó significativamente tanto los eosinófilos como los macrófagos en BALF (figura 16A y 16B), además de mejorar la SVR después de la reacción asmática temprana (figura 16C) y la magnitud general de la reacción asmática temprana (figura 16D), en comparación con vehículo.

Asma crónica inducida por ovoalbúmina en cobayas. Se sensibilizaron cobayas macho Dunkin Hartley a la ovoalbúmina y 4 semanas después se expusieron con ovoalbúmina semanalmente durante 12 semanas. Se realizó exposición a ovoalbúmina (0,05-0,5 %) mediante inhalación de solución en aerosol hasta que se observó obstrucción de las vías respiratorias. Los animales se trataron con anticuerpo 320-587 o vehículo i.p. cada 5 días a partir de la semana 8 de exposiciones a ovoalbúmina. La función de las vías respiratorias, por medio de la sensibilidad de las vías respiratorias a histamina, se midió antes de la exposición inicial, 24 horas antes de la exposición final y 6 horas después de la exposición final. Aunque no se observó ningún efecto sobre la SVR inducida por exposición a histamina, el anticuerpo 320-587 disminuyó significativamente la respuesta alérgica a OVA, ya que eran necesarias dosis progresivamente crecientes de OVA para inducir la obstrucción de las vías respiratorias (figura 18).

Se cree que las diferencias en el efecto terapéutico de los anticuerpos observadas en los modelos de asma aguda y crónica en cobayas son una función del modelo en sí. Se cree que, en el modelo crónico, el grado de SVR disminuye a lo largo del tiempo y, por consiguiente, se vuelve menos sensible al tratamiento. En la técnica, el modelo agudo se usa en general para observar los efectos compuestos en la sensibilidad de las vías respiratorias y el modelo crónico se usa en general para observar los efectos compuestos en la remodelación de las vías respiratorias. Están en curso evaluaciones de remodelación. No obstante, fue sorprendente observar que los anticuerpos influyen en la respuesta al alérgeno, aunque el anticuerpo no influyó sustancialmente en la SVR absoluta (respuesta a la histamina) en esta etapa, disminuyó significativamente la respuesta alérgica directa al antígeno.

### 3.0.2. Enfermedad inflamatoria intestinal

Colitis inducida por TNBS en ratas: Las ratas se trataron con una dosis única de ácido tri-nitrobenzenosulfónico en etanol mediante dosis de instilación intrarrectal. Los animales de control recibieron un volumen equivalente de etanol solamente. Durante un periodo de 7 días, los animales desarrollaron colitis focal caracterizada por ulceración del colon con infiltrado inflamatorio y diversos grados de fibrosis (p. ej., Wirtz *et al.* (2007) Nat. Protoc. 2: 541-546). La administración de 320-587 redujo significativamente múltiples indicadores de enfermedad, incluyendo el grosor del colon (figura 12A), el número y la gravedad de las adherencias (figura 12B) y el número y la gravedad de las estenosis (figura 12C) lo que conduce a una enfermedad significativamente más leve que los animales tratados con vehículo o un anticuerpo irrelevante con isotipo coincidente (figura 12D). También se observó disminución de la fibrosis de colon (figura 19) en animales tratados con 320.587.

Comparación de la enfermedad después de 7 y 14 días en colitis inducida por DNBS en ratas. Se indujo colitis como se ha descrito anteriormente usando ácido dinitrobenzenosulfónico (DNBS) en lugar de TNBS y las ratas usadas en los experimentos de DNBS fueron ratas Wistar. Los animales se trataron con el anticuerpo 320-587 o vehículo i.v. los días 1 y 8. Los grupos se evaluaron para determinar la colitis 7 y 14 días después de DNBS y la gravedad de la

5 enfermedad comparada entre los dos puntos temporales. El tratamiento con el anticuerpo 320-587 tuvo un efecto limitado el día 7, pero para el día 14, los animales tratados con el anticuerpo 320-587 mostraron una mejora significativa en el peso y la longitud del colon (figura 20A), fibrosis (figura 20B), infiltrado inflamatorio (figura 20C) y daño en el colon (figura 20D). Secciones representativas del área de la úlcera del colon (figura 20E) muestran el alcance de la reparación del daño y la reducción de la fibrosis a los 14 días. Tanto a los 7 como a los 14 días, los animales tratados con vehículo mostraron infiltrado inflamatorio extenso y fibrosis con pérdida significativa de la arquitectura intestinal. Por el contrario, los animales tratados con 320-587 mostraron infiltrado inflamatorio significativo, fibrosis y pérdida de la arquitectura intestinal a los 7 días, pero estos efectos se invierten en gran medida a los 14 días.

10 Se cree que las diferencias observadas en los efectos terapéuticos de los anticuerpos observados en los modelos de TNBS y DNBS surgen del uso de diferentes cepas de ratas (Sprague-Dawley para TNBS frente a Wistar para DNBS). Cada cepa de rata tiene diferencias en sus respuestas a exposiciones inmunológicas, de modo que se cree que la cinética de su respuesta en estos modelos es diferente. Asimismo, TNBS y DNBS son diferentes estructuralmente y se cree que inducen variaciones en la patología.

15 Colitis crónica (21 días) inducida por DSS en ratas. Las ratas recibieron sulfato sódico de dextrano (DSS) a una concentración de 5 % p/v en agua potable durante 7 días, después 2 % p/v en agua potable durante otros 14 días. Los animales desarrollaron diarrea, inflamación difusa del colon, hiperplasia de células caliciformes y daño y ulceración epitelial de la cripta (p. ej., Randhawa *et al.* (2014) *Korean J. Physiol. Pharmacol.* 18: 279-88). Las ratas se trataron con el anticuerpo 320-587 o vehículo mediante inyección intravenosa los días 5, 12 y 19. Los animales se pesaron y evaluaron para determinar enfermedad clínica (diarrea y sangre oculta) diariamente y se evaluaron el peso y la longitud del colon el día 21. El tratamiento con el anticuerpo 320-587 invirtió significativamente la desaceleración del aumento de peso inducida por DSS (figura 21A), alivió las señales clínicas de enfermedad (figura 21B) y mejoró el peso y la longitud del colon (figura 21C).

25 Inducción de citocinas intraperitoneales mediante TL1A humano recombinante. La inyección intraperitoneal de TL1A de ratón recombinante puede inducir la producción de citocinas inflamatorias tales como IL-5. En este estudio, los ratones recibieron una dosis única del anticuerpo 320-587 o del vehículo y luego una hora después se trataron con 40 mg/ratón de TL1A humano recombinante (rhTL1A). Seis horas después de la dosificación de rhTL1A, se realizó lavado peritoneal y se evaluó el líquido peritoneal para determinar las citocinas y quimiocinas mediante un ensayo múltiple. El tratamiento con el anticuerpo 320-587 disminuyó significativamente las concentraciones peritoneales de las citocinas G-CSF, IL-1b, IL-5, IL-6, IL-17 y las quimiocinas IP-10, KC, MCP-1, MIP-1a, MIP-1b, MIP-2 (figura 22).

30 La divulgación no se limita a las realizaciones descritas e ilustradas anteriormente, sino que es susceptible de variaciones y modificaciones dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

35

LISTADO DE SECUENCIAS

40 <110> Teva Pharmaceuticals Australia Pty Ltd

<120> Anticuerpos que se unen específicamente a TL1A

<130> 185704-3019

45 <160> 71

<170> PatentIn versión 3.5

50 <210> 1

<211> 119

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

55 <400> 1

ES 2 810 751 T3

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
 20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Arg Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Val Pro Glu Thr Ala Ala Phe Glu Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 2  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 2

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln  
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Ser Ser Ser Ser Asp Ile Gly Ala Gly

10

ES 2 810 751 T3

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

<210> 3  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 3

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

ES 2 810 751 T3

<210> 4  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 4

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

10 <210> 5  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 5

ES 2 810 751 T3

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln  
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Ser Ser Ser Ser Asp Ile Gly Ala Ala  
 20 25 30

Leu Gly Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu  
 35 40 45

Leu Ile Glu Gly Tyr Tyr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe  
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Leu  
 65 70 75 80

Leu Pro Glu Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Trp Asp Gly Thr  
 85 90 95

Leu Ser Ala Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110

5 <210> 6  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 6

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln  
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Ser Ser Ser Ser Asp Ile Gly Ala Gly  
 20 25 30

Ser Gly Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu  
 35 40 45

Leu Ile Glu Gly Tyr Tyr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe  
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Leu  
 65 70 75 80

Leu Pro Glu Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Trp Asp Gly Thr  
 85 90 95

Leu Ser Ala Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110

ES 2 810 751 T3

<210> 7  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 7

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln  
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Ser Ser Ser Ser Asp Ile Gly Ala Gly  
 20 25 30

Gln Gly Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu  
 35 40 45

Leu Ile Glu Gly Tyr Tyr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe  
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Leu  
 65 70 75 80

Leu Pro Glu Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Trp Asp Gly Thr  
 85 90 95

Leu Ser Ala Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110

10

<210> 8  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 8

ES 2 810 751 T3

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Ser Ser Ser Ser Asp Ile Gly Ala Gly  
20 25 30

Leu Gly Val Leu Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu  
35 40 45

Leu Ile Glu Gly Tyr Tyr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe  
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Leu  
65 70 75 80

Leu Pro Glu Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Trp Asp Gly Thr  
85 90 95

Leu Ser Ala Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
100 105 110

<210> 9  
<211> 111  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

5

<400> 9

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Ser Ser Ser Ser Asp Ile Gly Ala Gly  
20 25 30

10

Leu Gly Val Leu Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu  
35 40 45

Leu Ile Glu Gly Tyr Tyr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe  
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Leu  
65 70 75 80

Leu Pro Glu Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Gly Thr  
85 90 95

Leu Ser Ala Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
100 105 110

ES 2 810 751 T3

<210> 10  
<211> 111  
<212> PRT  
5 <213> *Homo sapiens*

<400> 10

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

10 <210> 11  
<211> 111  
<212> PRT  
15 <213> *Homo sapiens*

<400> 11

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

ES 2 810 751 T3

1                    5                    10                    15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Ser Ser Ser Ser Asp Ile Gly Ala Ala  
                   20                    25                    30

Leu Gly Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu  
                   35                    40                    45

Leu Ile Glu Gly Tyr Tyr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe  
                   50                    55                    60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Leu  
                   65                    70                    75                    80

Leu Pro Glu Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Gly Thr  
                   85                    90                    95

Leu Ser Ala Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
                   100                    105                    110

<210> 12  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 12

5

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln  
 1                    5                    10                    15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Ser Ser Ser Ser Asp Ile Gly Ala Gly  
                   20                    25                    30

Ser Gly Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu  
                   35                    40                    45

Leu Ile Glu Gly Tyr Tyr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe  
                   50                    55                    60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Leu  
                   65                    70                    75                    80

Leu Pro Glu Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Gly Thr  
                   85                    90                    95

Leu Ser Ala Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
                   100                    105                    110

10

ES 2 810 751 T3

<210> 13  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 13

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

10 <210> 14  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15 <220>  
 <221> Xaa  
 <222> (32)..(32)  
 <223> G o A

20 <220>  
 <221> Xaa  
 <222> (33)..(33)  
 <223> L o S o Q

25 <220>  
 <221> Xaa  
 <222> (36)..(36)  
 <223> H o L

30 <220>  
 <221> Xaa  
 <222> (93)..(93)  
 <223> Y o F o W

35 <400> 14

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

ES 2 810 751 T3

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

5  
 <210> 15  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10  
 <400> 15

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn  
 1 5 10

15  
 <210> 16  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 16

20  
 Trp Leu Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly  
 1 5 10

25  
 <210> 17  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 17

Glu Val Pro Glu Thr Ala Ala Phe Glu Tyr  
 1 5 10

30  
 <210> 18  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 810 751 T3

<400> 18

Thr Ser Ser Ser Ser Asp Ile Gly Ala Gly Leu Gly Val His  
 1 5 10

5

<210> 19  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10

<400> 19

Gly Tyr Tyr Asn Arg Pro Ser  
 1 5

15

<210> 20  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

20

<400> 20

Gln Ser Tyr Asp Gly Thr Leu Ser Ala Leu  
 1 5 10

25

<210> 21  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

30

<400> 21

Trp Leu Asn Pro Asn Ser Gly Tyr Thr Gly  
 1 5 10

35

<210> 22  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 22

Gln Ser Trp Asp Gly Thr Leu Ser Ala Leu  
 1 5 10

40

<210> 23  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

45

<400> 23

Thr Ser Ser Ser Ser Asp Ile Gly Ala Ala Leu Gly Val His  
 1 5 10

50

<210> 24  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

55

ES 2 810 751 T3

<400> 24

Thr Ser Ser Ser Ser Asp Ile Gly Ala Gly Ser Gly Val His  
1 5 10

5 <210> 25  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

10 <400> 25

Thr Ser Ser Ser Ser Asp Ile Gly Ala Gly Gln Gly Val His  
1 5 10

15 <210> 26  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

20 <400> 26

Thr Ser Ser Ser Ser Asp Ile Gly Ala Gly Leu Gly Val Leu  
1 5 10

25 <210> 27  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 27

Gln Ser Phe Asp Gly Thr Leu Ser Ala Leu  
1 5 10

30 <210> 28  
<211> 10  
<212> PRT  
35 <213> *Homo sapiens*

40 <220>  
<221> Xaa  
<222> (8)..(8)  
<223> N o Y

<400> 28

Trp Leu Asn Pro Asn Ser Gly Xaa Thr Gly  
1 5 10

45 <210> 29  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

50 <220>  
<221> Xaa  
<222> (10)..(10)  
<223> G o A

55

ES 2 810 751 T3

<220>  
 <221> Xaa  
 <222> (11)..(11)  
 <223> L o S o Q  
 5  
 <220>  
 <221> Xaa  
 <222> (14)..(14)  
 <223> H o L  
 10  
 <400> 29  
  
 Thr Ser Ser Ser Ser Asp Ile Gly Ala Xaa Xaa Gly Val Xaa  
 1 5 10  
  
 15 <210> 30  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 20 <220>  
 <221> Xaa  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Y o W o F  
 25 <400> 30  
  
 Gln Ser Xaa Asp Gly Thr Leu Ser Ala Leu  
 1 5 10  
  
 30 <210> 31  
 <211> 180  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 35 <400> 31  
  
 Leu Lys Gly Gln Glu Phe Ala Pro Ser His Gln Gln Val Tyr Ala Pro  
 1 5 10 15  
  
 Leu Arg Ala Asp Gly Asp Lys Pro Arg Ala His Leu Thr Val Val Arg  
 20 25 30  
  
 Gln Thr Pro Thr Gln His Phe Lys Asn Gln Phe Pro Ala Leu His Trp  
 35 40 45  
  
 Glu His Glu Leu Gly Leu Ala Phe Thr Lys Asn Arg Met Asn Tyr Thr  
 50 55 60

ES 2 810 751 T3

Asn Lys Phe Leu Leu Ile Pro Glu Ser Gly Asp Tyr Phe Ile Tyr Ser  
65 70 75 80

Gln Val Thr Phe Arg Gly Met Thr Ser Glu Cys Ser Glu Ile Arg Gln  
85 90 95

Ala Gly Arg Pro Asn Lys Pro Asp Ser Ile Thr Val Val Ile Thr Lys  
100 105 110

Val Thr Asp Ser Tyr Pro Glu Pro Thr Gln Leu Leu Met Gly Thr Lys  
115 120 125

Ser Val Cys Glu Val Gly Ser Asn Trp Phe Gln Pro Ile Tyr Leu Gly  
130 135 140

Ala Met Phe Ser Leu Gln Glu Gly Asp Lys Leu Met Val Asn Val Ser  
145 150 155 160

Asp Ile Ser Leu Val Asp Tyr Thr Lys Glu Asp Lys Thr Phe Phe Gly  
165 170 175

Ala Phe Leu Leu  
180

<210> 32  
<211> 180  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

5

<400> 32

Leu Lys Gly Gln Glu Phe Ala Pro Ser His Gln Gln Val Tyr Ala Pro  
1 5 10 15

Leu Arg Ala Asp Gly Asp Lys Pro Arg Ala His Leu Thr Val Val Arg  
20 25 30

Gln Thr Pro Thr Gln His Phe Lys Asn Gln Phe Pro Ala Leu His Trp  
35 40 45

Glu His Glu Leu Gly Leu Ala Phe Thr Lys Asn Arg Met Asn Tyr Thr  
50 55 60

Asn Lys Phe Leu Leu Ile Pro Glu Ser Gly Asp Tyr Phe Ile Tyr Ser  
65 70 75 80

Gln Val Thr Phe Ala Gly Met Thr Ser Glu Cys Ser Glu Ile Arg Gln  
85 90 95

10

ES 2 810 751 T3

Ala Gly Arg Pro Asn Lys Pro Asp Ser Ile Thr Val Val Ile Thr Lys  
 100 105 110

Val Thr Asp Ser Tyr Pro Glu Pro Thr Gln Leu Leu Met Gly Thr Lys  
 115 120 125

Ser Val Cys Glu Val Gly Ser Asn Trp Phe Gln Pro Ile Tyr Leu Gly  
 130 135 140

Ala Met Phe Ser Leu Gln Glu Gly Asp Lys Leu Met Val Asn Val Ser  
 145 150 155 160

Asp Ile Ser Leu Val Asp Tyr Thr Lys Glu Asp Lys Thr Phe Phe Gly  
 165 170 175

Ala Phe Leu Leu  
 180

5

<210> 33  
 <211> 210  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 33

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ser His His His His His His  
 1 5 10 15

His His Gly Ser Gly Ser Leu Val Pro Arg Gly Ser Gly Ser Leu Lys  
 20 25 30

Gly Gln Glu Phe Ala Pro Ser His Gln Gln Val Tyr Ala Pro Leu Arg  
 35 40 45

Ala Asp Gly Asp Lys Pro Arg Ala His Leu Thr Val Val Arg Gln Thr  
 50 55 60

Pro Thr Gln His Phe Lys Asn Gln Phe Pro Ala Leu His Trp Glu His  
 65 70 75 80

Glu Leu Gly Leu Ala Phe Thr Lys Asn Arg Met Asn Tyr Thr Asn Lys  
 85 90 95

Phe Leu Leu Ile Pro Glu Ser Gly Asp Tyr Phe Ile Tyr Ser Gln Val  
 100 105 110

Thr Phe Arg Gly Met Thr Ser Glu Cys Ser Glu Ile Arg Gln Ala Gly  
 115 120 125

10

ES 2 810 751 T3

Arg Pro Asn Lys Pro Asp Ser Ile Thr Val Val Ile Thr Lys Val Thr  
 130 135 140

Asp Ser Tyr Pro Glu Pro Thr Gln Leu Leu Met Gly Thr Lys Ser Val  
 145 150 155 160

Cys Glu Val Gly Ser Asn Trp Phe Gln Pro Ile Tyr Leu Gly Ala Met  
 165 170 175

Phe Ser Leu Gln Glu Gly Asp Lys Leu Met Val Asn Val Ser Asp Ile  
 180 185 190

Ser Leu Val Asp Tyr Thr Lys Glu Asp Lys Thr Phe Phe Gly Ala Phe  
 195 200 205

Leu Leu  
 210

5 <210> 34  
 <211> 180  
 <212> PRT  
 <213> *Macaca fascicularis*  
 <400> 34

Leu Lys Gly Gln Glu Phe Ala Pro Ser His Gln Gln Val Tyr Ala Pro  
 1 5 10 15

Leu Arg Ala Asp Gly Asp Lys Pro Arg Ala His Leu Thr Val Val Arg  
 20 25 30

Gln Thr Pro Thr Gln His Leu Lys Asn Gln Phe Pro Ala Leu His Trp  
 35 40 45

Glu His Glu Leu Gly Leu Ala Phe Thr Lys Asn Arg Met Asn Tyr Thr  
 50 55 60

Asn Lys Phe Leu Leu Ile Pro Glu Ser Gly Asp Tyr Phe Val Tyr Ser  
 65 70 75 80

Gln Val Thr Phe Arg Gly Met Thr Ser Glu Cys Ser Glu Ile Arg Gln  
 85 90 95

Ala Gly Arg Pro Asn Lys Pro Asp Ser Ile Thr Val Val Ile Thr Lys  
 100 105 110

Val Thr Asp Ser Tyr Pro Glu Pro Thr Gln Leu Leu Met Gly Thr Lys  
 115 120 125

10

ES 2 810 751 T3

Ser Val Cys Glu Val Gly Ser Asn Trp Phe Gln Pro Ile Tyr Leu Gly  
 130 135 140

Ala Met Phe Ser Leu Gln Glu Gly Asp Lys Leu Met Val Asn Val Ser  
 145 150 155 160

Asp Ile Ser Leu Val Asp Tyr Thr Lys Glu Asp Lys Thr Phe Phe Gly  
 165 170 175

Ala Phe Leu Leu  
 180

<210> 35  
 <211> 180  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

5

<400> 35

Leu Arg Ala Ile Thr Glu Glu Arg Ser Glu Pro Ser Pro Gln Gln Val  
 1 5 10 15

Tyr Ser Pro Pro Arg Gly Lys Pro Arg Ala His Leu Thr Ile Lys Lys  
 20 25 30

Gln Thr Pro Ala Pro His Leu Lys Asn Gln Leu Ser Ala Leu His Trp  
 35 40 45

Glu His Asp Leu Gly Met Ala Phe Thr Lys Asn Gly Met Lys Tyr Ile  
 50 55 60

Asn Lys Ser Leu Val Ile Pro Glu Ser Gly Asp Tyr Phe Ile Tyr Ser  
 65 70 75 80

Gln Ile Thr Phe Arg Gly Thr Thr Ser Val Cys Gly Asp Ile Ser Arg  
 85 90 95

Gly Arg Arg Pro Asn Lys Pro Asp Ser Ile Thr Met Val Ile Thr Lys  
 100 105 110

Val Ala Asp Ser Tyr Pro Glu Pro Ala Arg Leu Leu Thr Gly Ser Lys  
 115 120 125

Ser Val Cys Glu Ile Ser Asn Asn Trp Phe Gln Ser Leu Tyr Leu Gly  
 130 135 140

Ala Thr Phe Ser Leu Glu Glu Gly Asp Arg Leu Met Val Asn Val Ser  
 145 150 155 160

10

ES 2 810 751 T3

Asp Ile Ser Leu Val Asp Tyr Thr Lys Glu Asp Lys Thr Phe Phe Gly  
 165 170 175

Ala Phe Leu Leu  
 180

<210> 36  
 <211> 180  
 <212> PRT  
 <213> *Rattus norvegicus*

5

<400> 36

Phe Pro Thr Val Thr Glu Glu Arg Ser Ala Pro Ser Ala Gln Pro Val  
 1 5 10 15

Tyr Thr Pro Ser Arg Asp Lys Pro Lys Ala His Leu Thr Ile Met Arg  
 20 25 30

Gln Thr Pro Val Pro His Leu Lys Asn Glu Leu Ala Ala Leu His Trp  
 35 40 45

Glu Asn Asn Leu Gly Met Ala Phe Thr Lys Asn Arg Met Asn Tyr Thr  
 50 55 60

Asn Lys Phe Leu Val Ile Pro Glu Ser Gly Asp Tyr Phe Ile Tyr Ser  
 65 70 75 80

Gln Ile Thr Phe Arg Gly Thr Thr Ser Glu Cys Gly Asp Ile Ser Arg  
 85 90 95

Val Arg Arg Pro Lys Lys Pro Asp Ser Ile Thr Val Val Ile Thr Lys  
 100 105 110

Val Ala Asp Ser Tyr Pro Glu Pro Ala His Leu Leu Thr Gly Thr Lys  
 115 120 125

Ser Val Cys Glu Ile Ser Ser Asn Trp Phe Gln Pro Ile Tyr Leu Gly  
 130 135 140

Ala Met Phe Ser Leu Glu Glu Gly Asp Arg Leu Met Val Asn Val Ser  
 145 150 155 160

Asp Ile Ser Leu Val Asp Tyr Thr Lys Glu Asp Lys Thr Phe Phe Gly  
 165 170 175

Ala Phe Leu Ile  
 180

10

<210> 37

ES 2 810 751 T3

<211> 179  
 <212> PRT  
 <213> *Cavia porcellus*

5 <400> 37

Ile Asn Glu Gln Arg Phe Gly Pro Ser Tyr Gln Arg Val Tyr Thr Pro  
 1 5 10 15

Leu Arg Asp Asp Arg Asp Lys Pro Arg Ala His Leu Thr Val Val Arg  
 20 25 30

Gln Thr Pro Thr Gln His Leu Lys Asn Gln Phe Pro Ala Leu His Trp  
 35 40 45

Glu His Glu Leu Gly Leu Ala Phe Thr Lys Asn Arg Met Asn Tyr Thr  
 50 55 60

Asn Lys Phe Leu Val Ile Pro Glu Thr Gly Asp Tyr Phe Val Tyr Ser  
 65 70 75 80

Gln Ile Thr Phe Arg Gly Thr Thr Ser Glu Cys Gly Ile Ser Pro Gly  
 85 90 95

Arg Gln Gln Asn Lys Pro Asp Ser Ile Phe Val Val Ile Thr Lys Val  
 100 105 110

Thr Asp Ser Tyr Pro Glu Pro Ser Gln Leu Leu Thr Gly Thr Lys Ser  
 115 120 125

Val Cys Glu Ile Ser Ser Asn Trp Phe Gln Pro Leu Tyr Leu Gly Ala  
 130 135 140

Met Phe Ser Leu Gln Glu Gly Asp Lys Leu Met Val Asn Val Ser Asp  
 145 150 155 160

Ile Ser Leu Val Asp Tyr Thr Lys Glu Asp Lys Thr Phe Phe Gly Ala  
 165 170 175

Phe Leu Leu

10 <210> 38  
 <211> 180  
 <212> PRT  
 <213> *Felis catus*

15 <400> 38

ES 2 810 751 T3

Pro Lys Gly Arg Glu Phe Gly Pro Ser His Gln Arg Ala Tyr Thr Ser  
1 5 10 15

Pro Gly Ala Gly Gly Asp Lys Pro Arg Ala His Leu Thr Val Val Arg  
20 25 30

Gln Thr Pro Thr Gln Pro Leu Lys Asn Gln Phe Pro Ala Leu His Trp  
35 40 45

Glu His Glu Leu Gly Leu Ala Phe Ile Lys Asn Arg Met Asn Tyr Thr  
50 55 60

Asn Lys Phe Leu Val Ile Pro Glu Ser Gly Asp Tyr Phe Val Tyr Ser  
65 70 75 80

Gln Val Thr Phe Arg Gly Thr Thr Ser Glu Cys Gly Glu Ile Arg Gln  
85 90 95

Gly Ser Arg Leu Asn Lys Pro Asp Ser Ile Ile Val Val Ile Thr Lys  
100 105 110

Val Thr Asp Ser Tyr Pro Glu Pro Thr Gln Leu Leu Met Gly Thr Lys  
115 120 125

Ser Val Cys Glu Val Gly Ser Asn Trp Phe Gln Pro Ile Tyr Leu Gly  
130 135 140

Ala Met Phe Ser Leu Gln Glu Gly Asp Lys Leu Met Val Asn Val Ser  
145 150 155 160

Asp Ile Ser Leu Val Asp Tyr Thr Lys Glu Asp Lys Thr Phe Phe Gly  
165 170 175

Ala Phe Leu Leu  
180

<210> 39  
<211> 180  
<212> PRT  
<213> *Sus scrofa*

5

<400> 39

Pro Lys Gly Gln Glu Leu Gly Pro Ser His Gln Arg Val Tyr Ala Pro  
1 5 10 15

Pro Gly Ala Gly Arg Asp Lys Pro Arg Ala His Leu Thr Val Val Arg  
20 25 30

10

ES 2 810 751 T3

Gln Thr Ser Thr Glu Pro Leu Lys Asn Gln Phe Pro Ala Leu His Trp  
 35 40 45

Glu His Glu Leu Gly Leu Ala Phe Thr Lys Asn Arg Met Asn Tyr Thr  
 50 55 60

Asn Lys Phe Leu Val Ile Pro Glu Ser Gly Asp Tyr Phe Ile Tyr Ser  
 65 70 75 80

Gln Val Thr Phe Arg Gly Thr Thr Ser Glu Cys Gly Glu Ile Ser Gln  
 85 90 95

Glu Arg Arg Leu Asn Lys Pro Asp Ser Ile Ile Val Val Ile Thr Lys  
 100 105 110

Val Thr Asp Ser Tyr Pro Glu Pro Thr Gln Leu Leu Met Gly Thr Lys  
 115 120 125

Ser Val Cys Glu Ile Gly Ser Asn Trp Phe Gln Pro Ile Tyr Leu Gly  
 130 135 140

Ala Met Phe Ser Leu His Glu Gly Asp Lys Leu Met Val Asn Val Ser  
 145 150 155 160

Asp Ile Ser Leu Val Asp Tyr Thr Lys Glu Asp Lys Thr Phe Phe Gly  
 165 170 175

Ala Phe Leu Leu  
 180

<210> 40  
 <211> 179  
 <212> PRT  
 <213> *Oryctolagus cuniculus*

5

<400> 40

Leu Lys Gly Arg Glu Phe Gly Pro Ser Gln Gln Arg Ala Tyr Met Pro  
 1 5 10 15

Leu Arg Ala Asp Gly Asn Lys Pro Arg Ala His Leu Thr Ala Val Lys  
 20 25 30

Gln Thr Pro Thr Gln Pro Leu Arg Asn His Phe Pro Ala Leu His Trp  
 35 40 45

Glu His Glu Leu Gly Leu Ala Phe Thr Lys Asn Arg Met Asn Tyr Thr  
 50 55 60

10

ES 2 810 751 T3

Asn Lys Phe Leu Val Ile Pro Glu Ser Gly Asp Tyr Phe Val Tyr Ser  
65 70 75 80

Gln Val Thr Phe Arg Gly Thr Thr Ser Glu Cys Gly Val Ile Asn Gln  
85 90 95

Arg Arg Arg Gln Thr Lys Pro Asp Ser Ile Val Val Val Ile Thr Lys  
100 105 110

Val Thr Asp Asn Tyr Pro Glu Pro Ala Gln Leu Leu Thr Gly Thr Lys  
115 120 125

Ser Val Cys Glu Met Gly Asn Trp Phe Gln Pro Ile Tyr Leu Gly Ala  
130 135 140

Met Phe Ser Leu Glu Glu Gly Asp Lys Leu Met Val Asn Val Ser Asp  
145 150 155 160

Val Ser Leu Val Asp Tyr Thr Lys Glu Asp Lys Thr Phe Phe Gly Ala  
165 170 175

Phe Leu Leu

<210> 41  
<211> 180  
<212> PRT  
<213> *Canis familiaris*

5

<400> 41

Pro Lys Gly Gln Glu Phe Gly His Ser His Gln Arg Ala Tyr Ala Ser  
1 5 10 15

Pro Arg Ala Gly Gly Asp Lys Pro Arg Ala His Leu Thr Val Val Arg  
20 25 30

Gln Ser Pro Thr Gln Pro Leu Glu Ser Leu Phe Pro Ala Leu His Trp  
35 40 45

Glu His Glu Leu Gly Leu Ala Phe Thr Lys Asn Arg Met Asn Tyr Thr  
50 55 60

Asn Lys Phe Leu Val Ile Pro Glu Ser Gly Asp Tyr Phe Val Tyr Ser  
65 70 75 80

Gln Val Thr Phe Arg Gly Thr Thr Ser Glu Cys Gly Glu Ala Arg Gln  
85 90 95

10

ES 2 810 751 T3

Gly Ser Arg Leu Asn Lys Pro Asp Ser Ile Ile Val Val Ile Thr Lys  
100 105 110

Val Thr Asp Ser Tyr Pro Glu Pro Thr Gln Leu Leu Met Gly Thr Lys  
115 120 125

Ser Val Cys Glu Val Gly Ser Asn Trp Phe Gln Pro Ile Tyr Leu Gly  
130 135 140

Ala Met Phe Ser Leu Gln Glu Gly Asp Lys Leu Met Val Asn Val Ser  
145 150 155 160

Asp Ile Ser Leu Val Asp Tyr Thr Lys Glu Asp Lys Thr Phe Phe Gly  
165 170 175

Ala Phe Leu Leu  
180

<210> 42  
<211> 330  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

5

<400> 42

ES 2 810 751 T3

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125

ES 2 810 751 T3

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
 225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325 330

<210> 43  
 <211> 329  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 43

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1 5 10 15

5

10

ES 2 810 751 T3

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
 225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270

ES 2 810 751 T3

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 325

<210> 44  
 <211> 330  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 44

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145 150 155 160

10

ES 2 810 751 T3

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
 225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325 330

<210> 45  
 <211> 327  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 45

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

5

10

ES 2 810 751 T3

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr  
 65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
 100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
 115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
 130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
 145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
 165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
 180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
 195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
 210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys  
 225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
 260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
 275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

ES 2 810 751 T3

290

295

300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
325

5 <210> 46  
<211> 326  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
  
<400> 46

ES 2 810 751 T3

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr  
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

ES 2 810 751 T3

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

<210> 47  
 <211> 327  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 47

ES 2 810 751 T3

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr



ES 2 810 751 T3

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
325

5  
<210> 48  
<211> 105  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
  
<400> 48

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu  
1 5 10 15

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe  
20 25 30

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val  
35 40 45

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys  
50 55 60

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser  
65 70 75 80

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu  
85 90 95

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
100 105

10  
  
15  
<210> 49  
<211> 357  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*  
  
<400> 49

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggcggag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60  
tcctgcaagg cttctggata caccttcacc agttatgata tcaactgggt gcgacaggcc 120  
cccggacaag ggcttgagtg gatgggatgg ctgaacccta acagtggtaa cacaggctat 180  
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accgcagatc gttccaccag cacagcctac 240  
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagaagtg 300  
cctgagacgg ccgcctttga gtactggggc caggaaccc tggtcaccgt ctctca 357

20  
  
25  
<210> 50  
<211> 333  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*

ES 2 810 751 T3

<400> 50

cagagcgtgc tgacacagcc tccatccgtg tctggcgccc ctggccagag agtgaccatc 60  
 agctgcacca gcagcagcag cgacatcgga gccggcctgg gcgtgcaactg gtatcagcag 120  
 ctgcctggca ccgcccccaa gctgctgac gagggctact acaaccggcc cagcggcgtg 180  
 cccgaccggt ttagcggcag caagagcggc accagcgcca gcctgacaat caccggcctg 240  
 ctgcccagag acgagggcga ctactactgc cagagctacg acggcaccct gagcgccttg 300  
 ttcggcggag gcaccaagct gaccgtccta ggt 333

5 <210> 51  
 <211> 357  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 51

caggtgcagc tgggtgcagtc cggcgccgag gtgaagaaac ccggcgccctc cgtgaagggtg 60  
 tcctgcaagg ccagcggcta caccttcacc tcctacgaca tcaactgggt gaggcaggcc 120  
 cccggccagg gcctggagtg gatgggctgg ctgaacccca actccggcta caccggctac 180  
 gccagaagt tccagggcag ggtgaccatg accgcccaca ggtccacctc caccgcctac 240  
 atggagctgt ccagcctgag gtccgaggac accgcccgtgt actattgccc cagggaggtg 300  
 cccgagaccg ctgccttcga gtactggggc cagggcaccc tgggtgaccgt gtccagc 357

15 <210> 52  
 <211> 333  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 52

cagagcgtgc tgacacagcc tccatccgtg tctggcgccc ctggccagag agtgaccatc 60  
 agctgcacca gcagcagcag cgacatcgga gccggcctgg gcgtgcaactg gtatcagcag 120  
 ctgcctggca ccgcccccaa gctgctgac gagggctact acaaccggcc cagcggcgtg 180  
 cccgaccggt ttagcggcag caagagcggc accagcgcca gcctgacaat caccggcctg 240  
 ctgcccagag acgagggcga ctactactgc cagagctggg acggcaccct gagcgccttg 300  
 ttcggcggag gcaccaagct gaccgtccta ggt 333

25 <210> 53  
 <211> 333  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 53

ES 2 810 751 T3

cagagcgtgc tgacacagcc tccatccgtg tctggcgccc ctggccagag agtgaccatc 60  
 agctgcacca gcagcagcag cgacatcgga gccgctctgg gcgtgactg gtatcagcag 120  
 ctgcctggca ccgcccccaa gctgctgatc gagggctact acaaccggcc cagcggcgtg 180  
 cccgaccggt ttagcggcag caagagcggc accagcgcca gcctgacaat caccggcctg 240  
 ctgcccgagg acgagggcga ctactactgc cagagctggg acggcaccct gagcgcctg 300  
 ttcggcggag gcaccaagct gaccgtccta ggt 333

5 <210> 54  
 <211> 333  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 54

cagagcgtgc tgacacagcc tccatccgtg tctggcgccc ctggccagag agtgaccatc 60  
 agctgcacca gcagcagcag cgacatcgga gccggcagcg gcgtgactg gtatcagcag 120  
 ctgcctggca ccgcccccaa gctgctgatc gagggctact acaaccggcc cagcggcgtg 180  
 cccgaccggt ttagcggcag caagagcggc accagcgcca gcctgacaat caccggcctg 240  
 ctgcccgagg acgagggcga ctactactgc cagagctggg acggcaccct gagcgcctg 300  
 ttcggcggag gcaccaagct gaccgtccta ggt 333

15 <210> 55  
 <211> 333  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 55

cagagcgtgc tgacacagcc tccatccgtg tctggcgccc ctggccagag agtgaccatc 60  
 agctgcacca gcagcagcag cgacatcgga gccggccagg gcgtgactg gtatcagcag 120  
 ctgcctggca ccgcccccaa gctgctgatc gagggctact acaaccggcc cagcggcgtg 180  
 cccgaccggt ttagcggcag caagagcggc accagcgcca gcctgacaat caccggcctg 240  
 ctgcccgagg acgagggcga ctactactgc cagagctggg acggcaccct gagcgcctg 300  
 ttcggcggag gcaccaagct gaccgtccta ggt 333

25 <210> 56  
 <211> 333  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 56

ES 2 810 751 T3

cagagcgtgc tgacacagcc tccatccgtg tctggcgccc ctggccagag agtgaccatc 60  
 agctgcacca gcagcagcag cgacatcgga gccggcctgg gcgtgctgtg gtatcagcag 120  
 ctgcctggca ccgcccccaa gctgctgacg gagggtact acaaccggcc cagcggcgtg 180  
 cccgaccggt ttagcggcag caagagcggc accagcgcca gcctgacaat caccggcctg 240  
 ctgcccgagg acgagggcga ctactactgc cagagctggg acggcaccct gagcgcctg 300  
 ttcggcggag gcaccaagct gaccgtccta ggt 333

5 <210> 57  
 <211> 333  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 57

cagagcgtgc tgacacagcc tccatccgtg tctggcgccc ctggccagag agtgaccatc 60  
 agctgcacca gcagcagcag cgacatcgga gccggcctgg gcgtgcaactg gtatcagcag 120  
 ctgcctggca ccgcccccaa gctgctgacg gagggtact acaaccggcc cagcggcgtg 180  
 cccgaccggt ttagcggcag caagagcggc accagcgcca gcctgacaat caccggcctg 240  
 ctgcccgagg acgagggcga ctactactgc cagagctttg acggcaccct gagcgcctg 300  
 10 ttcggcggag gcaccaagct gaccgtccta ggt 333

15 <210> 58  
 <211> 1344  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 58

ES 2 810 751 T3

caggtgcagc tgggtgcagtc cggcgccgag gtgaagaaac ccggcgcctc cgtgaagggtg 60  
 tcctgcaagg ccagcggcta caccttcacc tcctacgaca tcaactgggt gaggcaggcc 120  
 cccggccagg gcctggagtg gatgggctgg ctgaacccca actccggcta caccggctac 180  
 gcccagaagt tccagggcag ggtgaccatg accgcccaca ggtccacctc caccgcctac 240  
 atggagctgt ccagcctgag gtccgaggac accgccgtgt actattgcgc cagggaggtg 300  
 cccgagaccg ctgccttcga gtactggggc cagggcacc caggcaccgt gtccagcgc 360  
 tccaccaagg gccccagcgt gttccccctg gccccagct ccaagtccac cagcggcggga 420  
 accgcccctc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgagctgg 480  
 aactccggcg ccctgacctc cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gtccagcggc 540  
 ctgtactccc tgagctccgt ggtcacctg cctcctcta gcctgggcac ccagacctac 600  
 atctgcaacg tgaaccacaa gccctccaac accaagggtg acaaaaagggt ggagcccaag 660  
 tcctgcgaca agactcacac ctgtcctccc tgccccgccc ccgagctgct cggcggaccc 720  
 tccgtgttcc tgttcccacc caagcccaag gacaccctga tgatctccag gacccccgag 780  
 gtgacctgcg tggctcgtgga cgtgtcccac gaggaccctg aggtgaagtt caactggtac 840  
 gtggacggcg tggaggtgca caacgccaa accaagccca gggaggaaca gtacaactcc 900  
 acctaccggg tcgtgtccgt gctgacctc ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggag 960  
 tacaagtgca aggtgtccaa caaggccctg cccgccccca tcgagaagac catctccaag 1020  
 gccaaagggc agcctcggga gccccaggtg tacacactgc ccccttccag ggacgagctg 1080  
 accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtgaagggct tctaccctc cgacatcgcc 1140  
 gtggagtggg agtccaacgg ccagcccag aacaattaca agaccacacc tcccgtcctg 1200  
 gactccgacg gctccttctt tctgtactcc aagctgaccg tggacaagtc caggtggcag 1260  
 caaggcaacg tgttctcctg ctccgtgatg caccaggccc tgcacaacca ctacaccag 1320  
 aagtcctga gcctgtcccc cggc 1344

5 <210> 59  
 <211> 648  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 59

ES 2 810 751 T3

cagagcgtgc tgacacagcc tccatccgtg tctggcgccc ctggccagag agtgaccatc 60  
 agctgcacca gcagcagcag cgacatcgga gccggcctgg gcgtgcaactg gtatcagcag 120  
 ctgcctggca ccgcccccaa gctgctgata gagggtact acaaccggcc cagcggcgtg 180  
 cccgaccggt ttagcggcag caagagcggc accagcgcca gcctgacaat caccggcctg 240  
 ctgcccgagg acgagggcga ctactactgc cagagctggg acggcaccct gagcgcctg 300  
 ttcggcggag gcaccaagct gaccgtccta ggtcagccca aggccgctcc cagcgtgacc 360  
 ctgttcccc caagcagcga ggaactgcag gccacaagg ccaccctggt gtgcctgatc 420  
 agcgacttct accctggggc cgtgaccgtg gcctggaagg ccgatagcag ccctgtgaag 480  
 gccggcgtgg aaaccaccac cccctccaag cagagcaaca acaaatacgc cgccagcagc 540  
 tacctgtccc tgacccccga gcagtggaag tcccaccggt cctacagctg ccaggtgaca 600  
 cacgagggca gcaccgtgga aaagaccgtg gccccaccg agtgcagc 648

<210> 60  
 <211> 448  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 60

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

10

ES 2 810 751 T3

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Arg Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Val Pro Glu Thr Ala Ala Phe Glu Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu  
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
305 310 315 320

ES 2 810 751 T3

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 435 440 445

<210> 61  
 <211> 216  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 61

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln  
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Ser Ser Ser Ser Asp Ile Gly Ala Gly  
 20 25 30

Leu Gly Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu  
 35 40 45

Leu Ile Glu Gly Tyr Tyr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe  
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Leu  
 65 70 75 80

Leu Pro Glu Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Trp Asp Gly Thr  
 85 90 95

10

ES 2 810 751 T3

Leu Ser Ala Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln  
 100 105 110

Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu  
 115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr  
 130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys  
 145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr  
 165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His  
 180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys  
 195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 62  
 <211> 329  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 62

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

10

ES 2 810 751 T3

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu  
 225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 325

<210> 63  
 <211> 330  
 <212> PRT

ES 2 810 751 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 63

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu  
 225 230 235 240

ES 2 810 751 T3

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325 330

5 <210> 64  
 <211> 329  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 64

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125

ES 2 810 751 T3

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
 225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 325

<210> 65  
 <211> 330  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 65

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1 5 10 15

5

10

ES 2 810 751 T3

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
 225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn



ES 2 810 751 T3

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp



ES 2 810 751 T3

	35		40		45														
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser				
	50					55					60								
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr				
	65				70					75					80				
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys				
			85						90					95					
Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro				
			100					105					110						
Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp				
		115					120					125							
Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp				
	130					135					140								
Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly				
	145				150					155					160				
Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn				
				165					170					175					
Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp				
			180					185					190						
Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro				
		195					200					205							
Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu				
	210					215					220								
Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn				
	225				230					235					240				
Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile				
				245					250					255					
Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr				
			260				265						270						
Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys				
		275					280					285							

ES 2 810 751 T3

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
 290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
 305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325

<210> 68  
 <211> 325  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 68

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
 100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
 115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
 130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
 145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn  
 165 170 175

10

ES 2 810 751 T3

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp  
 180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro  
 195 200 205

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
 210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn  
 225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
 245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
 260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
 275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
 290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
 305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly  
 325

<210> 69  
 <211> 326  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 69

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

10

ES 2 810 751 T3

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

ES 2 810 751 T3

Leu Ser Leu Ser Leu Gly  
325

5  
<210> 70  
<211> 325  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
  
<400> 70

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr  
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn  
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp  
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro  
195 200 205

10

ES 2 810 751 T3

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
 210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn  
 225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
 245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
 260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
 275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
 290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
 305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly  
 325

<210> 71  
 <211> 326  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 71

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

10

ES 2 810 751 T3

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn  
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp  
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro  
195 200 205

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn  
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
325

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Un anticuerpo recombinante que se une específicamente al ligando 1A de tipo TNF (TL1A) y comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4.
- 10 2. El anticuerpo recombinante según la reivindicación 1, en donde el anticuerpo comprende una región constante de cadena pesada de IgG1 humana, opcionalmente en donde la región constante de cadena pesada de IgG1 humana comprende la SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65 o SEQ ID NO: 66.
- 15 3. El anticuerpo recombinante según la reivindicación 1, en donde el anticuerpo comprende una región constante de cadena pesada de IgG4 humana, opcionalmente en donde la región constante de IgG4 de cadena pesada humana comprende la SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47 o SEQ ID NO: 69.
- 20 4. El anticuerpo recombinante según la reivindicación 1, en donde el anticuerpo comprende una región constante de IgG2 de cadena pesada humana, opcionalmente en donde la región constante de IgG2 de cadena pesada humana comprende la SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70 o SEQ ID NO: 71.
- 25 5. El anticuerpo recombinante según la reivindicación 1, en donde el anticuerpo comprende una región constante lambda de cadena ligera humana.
- 30 6. El anticuerpo recombinante según la reivindicación 5, en donde el anticuerpo recombinante comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 61.
- 35 7. El anticuerpo recombinante según la reivindicación 2 o 6, en donde el anticuerpo recombinante comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 60.
- 40 8. Una composición, que comprende el anticuerpo recombinante según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 45 9. El anticuerpo recombinante según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, para su uso en el tratamiento de una enfermedad de las vías respiratorias, asma, EPOC, sarcoidosis pulmonar, rinitis alérgica, fibrosis pulmonar, fibrosis quística, una enfermedad gastrointestinal, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis, colitis ulcerosa, esofagitis eosinofílica, una enfermedad gastrointestinal asociada con la fibrosis quística, síndrome del intestino irritable, enfermedad de Crohn, artritis, artritis reumatoide, una dermatopatía, dermatitis atópica, eccema o esclerodermia.
- 50 10. El anticuerpo recombinante según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, para su uso en el tratamiento del asma.
- 55 11. Un método *in vitro* para detectar TL1A (i) en la superficie de células mononucleares de sangre periférica (PBMC), que comprende poner en contacto el anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 con PBMC aisladas de un sujeto, detectar el anticuerpo unido a TL1A en la superficie de las PBMC y, opcionalmente, cuantificar el nivel de TL1A en las PBMC, (ii) en suero sanguíneo, que comprende poner en contacto el anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 con suero sanguíneo obtenido de un sujeto, detectar el anticuerpo unido a TL1A en el suero y, opcionalmente, cuantificar el nivel de TL1A en el suero sanguíneo o (iii) en una muestra tisular aislada de un sujeto, que comprende poner en contacto el anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 con tejido aislado de un sujeto para formar un complejo de anticuerpo-TL1A y detectar el complejo en el tejido.
12. Una célula transformada que expresa el anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7.
13. Un polinucleótido que tiene una secuencia de ácido nucleico que codifica un anticuerpo según la reivindicación 1, que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4.

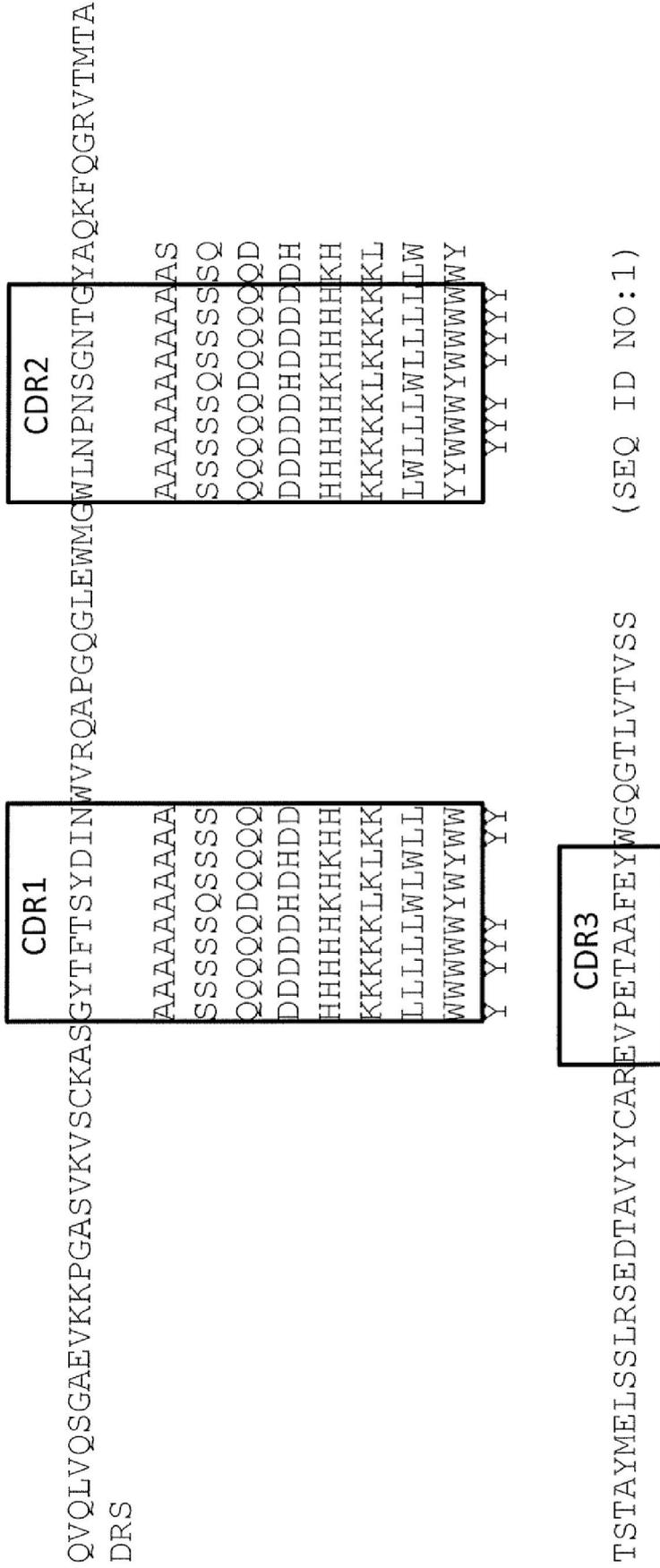


FIGURA 1

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTSSSSDIGAGLGVHNYQQLPGTAPKLLIEGYNRPSSGVPDRFSGSKSGT  
ASL

**CDR1**  
AAAAAASAAAA  
SQQQSSSSSS  
QDDDDQQDDQ  
DHHHHDDDDDD  
HKKKKHHKHHH  
KLLLLLKKLKKK  
LWWWLWLLWLL  
WYYYWYWWYWW  
Y YY Y YYY

**CDR2**

**CDR3**  
AAAAAASA  
SQSSSSQS  
DDQQQDDQ  
HHDHDDHHD  
KHKHHKHHK  
LLKLLKLLK  
WLLWLLWWW  
YWWYWWYYY  
F YY

TITGLLPEDEGDYQCQSYDGTLSALFEGGKLTVLG (SEQ ID NO:2)

A S Q D H K W Y

FIGURA 2



ES 2 810 751 T3

	10	20	30	40	50	60	
179VL	Q	S	V	L	T	Q	P
267VL	.	.	.	.	.	.	.
277VL	.	.	.	.	.	.	.
278VL	.	.	.	.	.	.	.
307VL	.	.	.	.	.	.	.
331VL	.	.	.	.	.	.	.
547VL	.	.	.	.	.	.	.
583VL	.	.	.	.	.	.	.
584VL	.	.	.	.	.	.	.
585VL	.	.	.	.	.	.	.
586VL	.	.	.	.	.	.	.
587VL	.	.	.	.	.	.	.
591VL	.	.	.	.	.	.	.
592VL	.	.	.	.	.	.	.
593VL	.	.	.	.	.	.	.
594VL	.	.	.	.	.	.	.
595VL	.	.	.	.	.	.	.
601VL	.	.	.	.	.	.	.

	70	80	90	100	110	
179VL	G	T	S	A	S	L
267VL	.	.	.	.	.	.
277VL	.	.	.	.	.	.
278VL	.	.	.	.	.	.
307VL	.	.	.	.	.	.
331VL	.	.	.	.	.	.
547VL	.	.	.	.	.	.
583VL	.	.	.	.	.	.
584VL	.	.	.	.	.	.
585VL	.	.	.	.	.	.
586VL	.	.	.	.	.	.
587VL	.	.	.	.	.	.
591VL	.	.	.	.	.	.
592VL	.	.	.	.	.	.
593VL	.	.	.	.	.	.
594VL	.	.	.	.	.	.
595VL	.	.	.	.	.	.
601VL	.	.	.	.	.	.

179VL	SEQ ID NO: 2
267VL	SEQ ID NO: 11
277VL	SEQ ID NO: 12
278VL	SEQ ID NO: 13
307VL	SEQ ID NO: 9
331VL	SEQ ID NO: 4
547VL	SEQ ID NO: 2
583VL	SEQ ID NO: 5
584VL	SEQ ID NO: 6
585VL	SEQ ID NO: 7
586VL	SEQ ID NO: 8
587VL	SEQ ID NO: 4
591VL	SEQ ID NO: 9
592VL	SEQ ID NO: 5
593VL	SEQ ID NO: 6
594VL	SEQ ID NO: 7
595VL	SEQ ID NO: 8
601VL	SEQ ID NO: 10

FIGURA 4

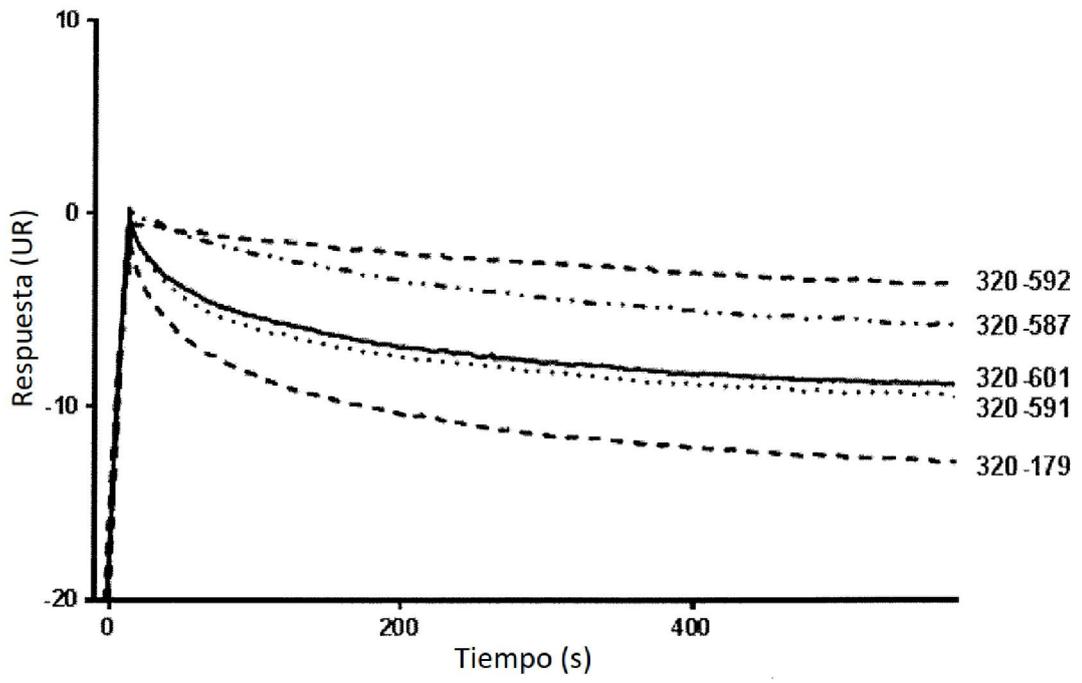


FIGURA 5

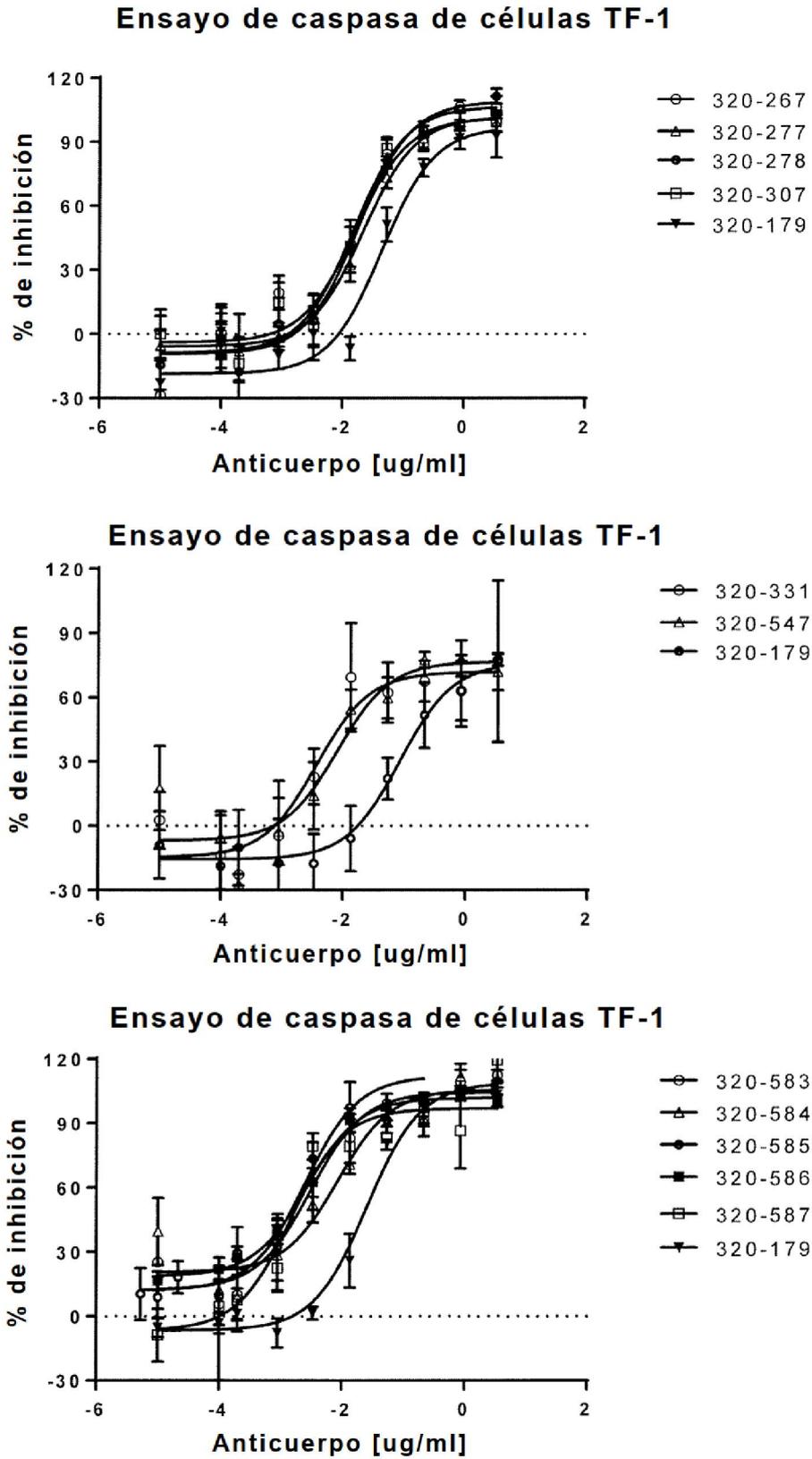


FIGURA 6

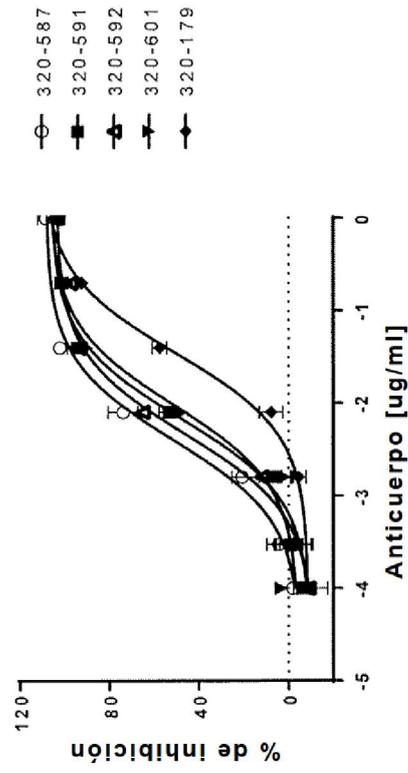
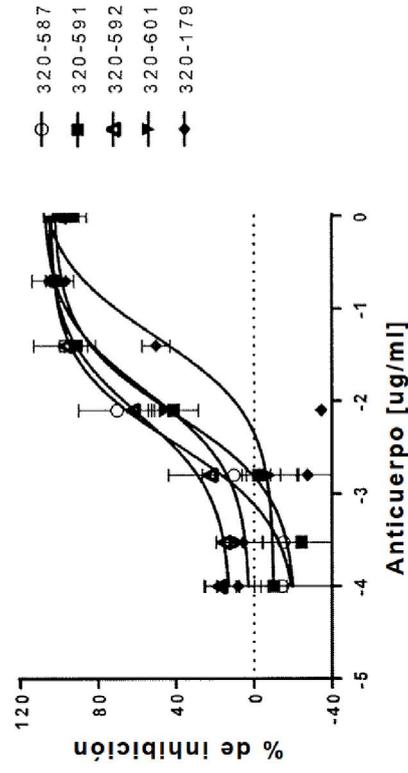
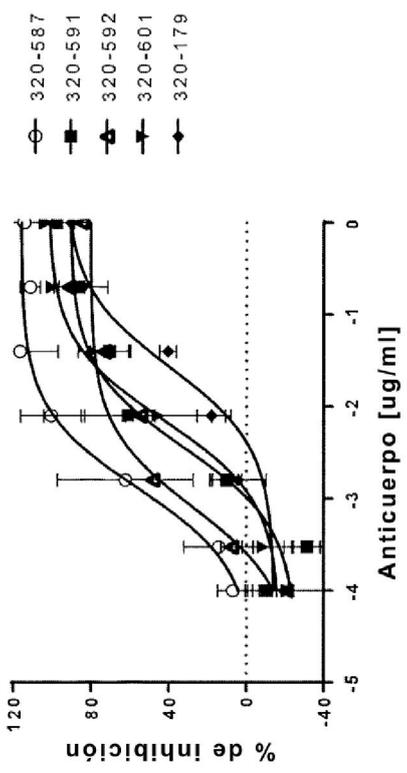
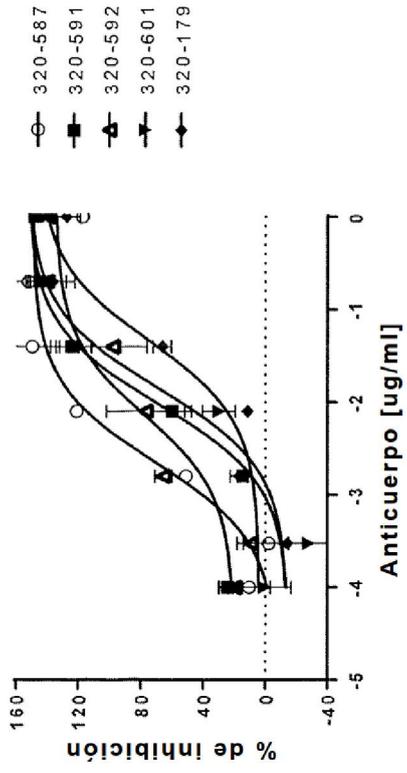
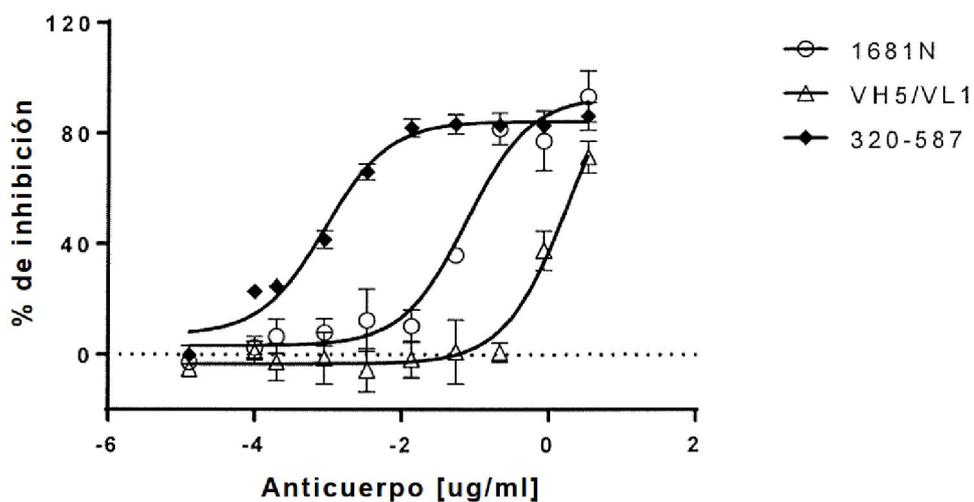
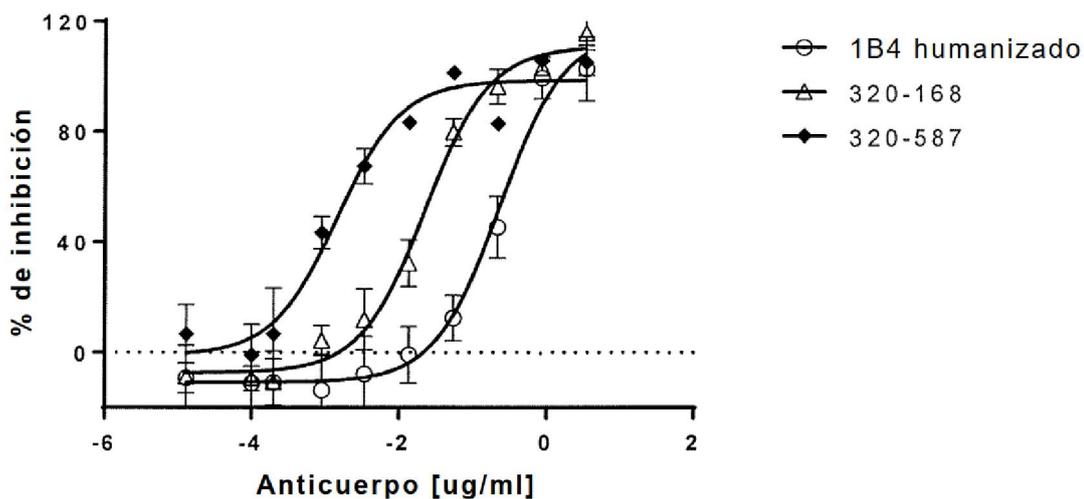


FIGURA 7



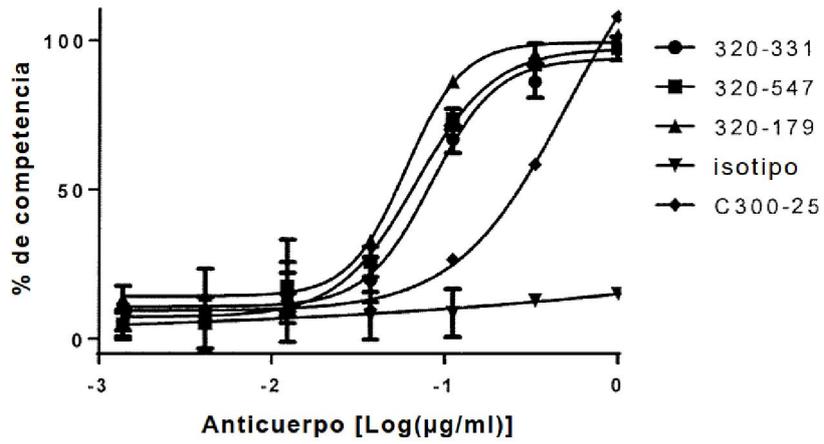
Anticuerpo	CI-50 (ug/ml)	Factor de mejora de 320-587
320-587	0,00091	
1681N	0,077	85
VH5/VL1	1,876	2062



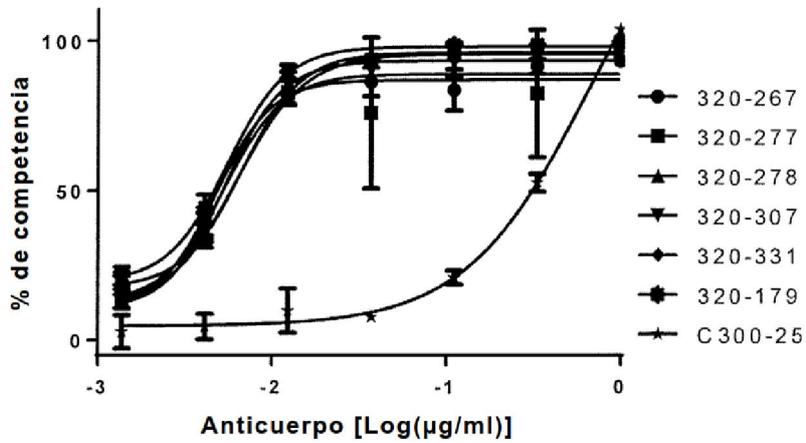
Anticuerpo	CI-50 (ug/ml)	Factor de mejora de 320-587
320-587	0,0015	
320-168	0,023	15,3
VH5/VL1	0,23	153

FIGURA 8

Competencia por la unión a TL1A: DR3



Competencia por la unión a TL1A: DR3



Competencia por la unión a TL1A: DR3

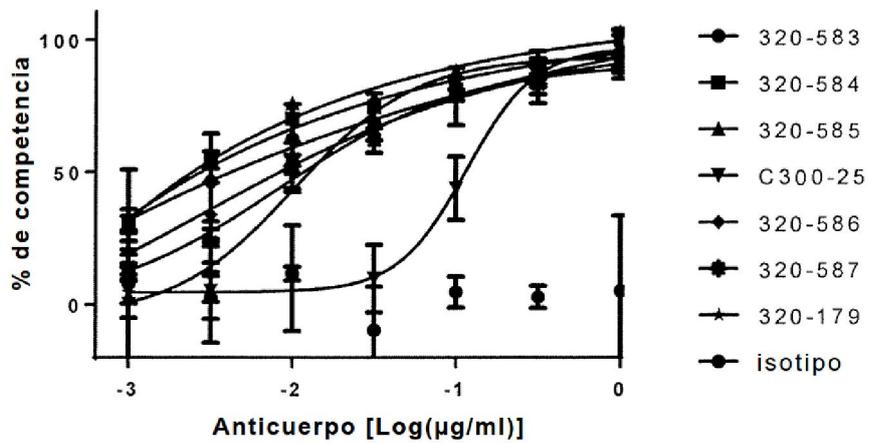


FIGURA 9

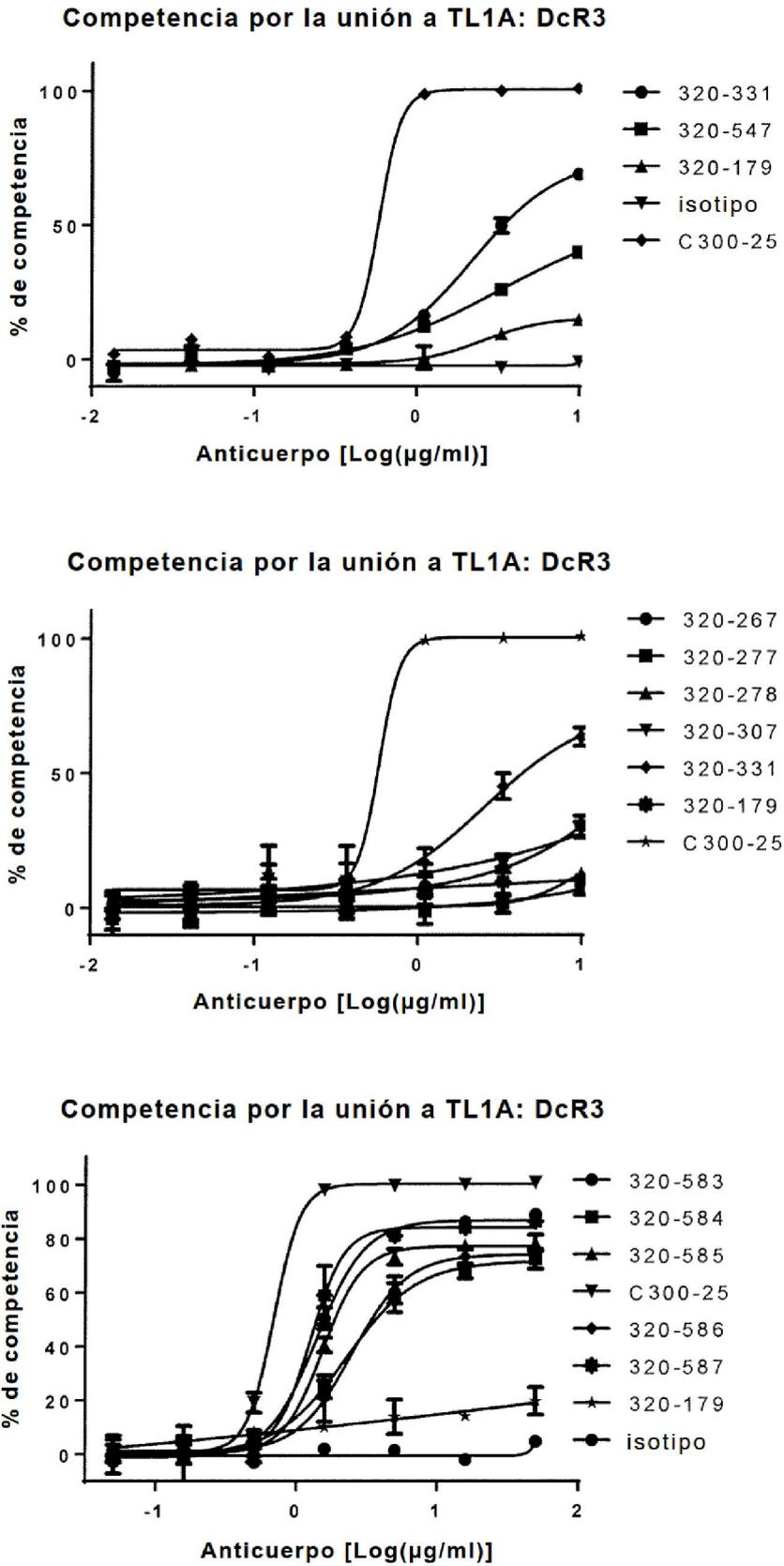


FIGURA 10

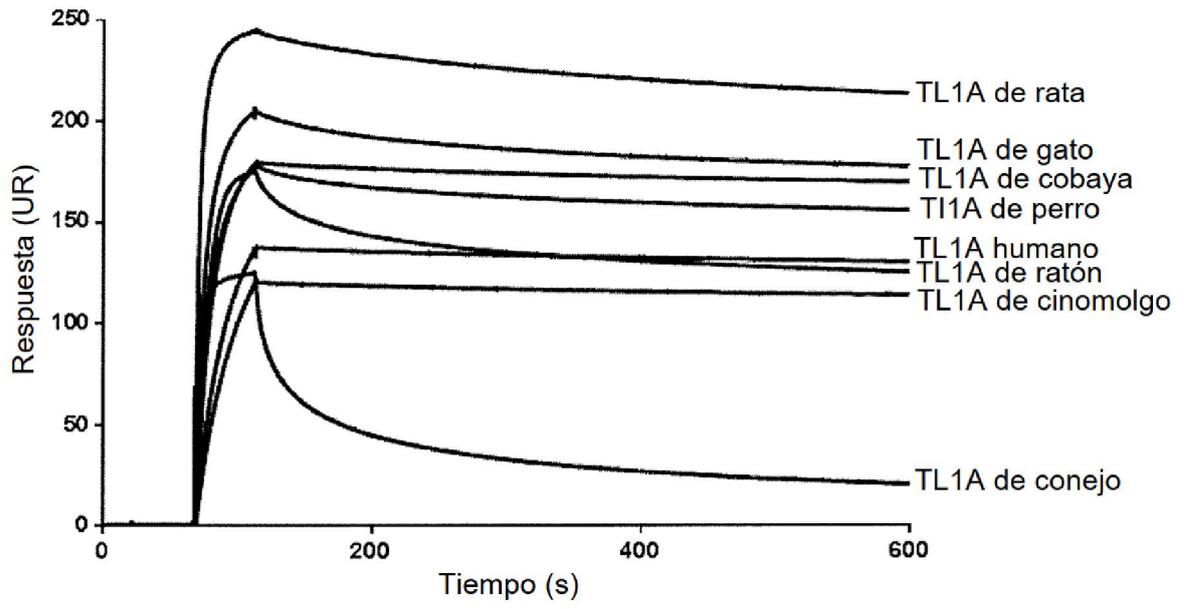


FIGURA 11

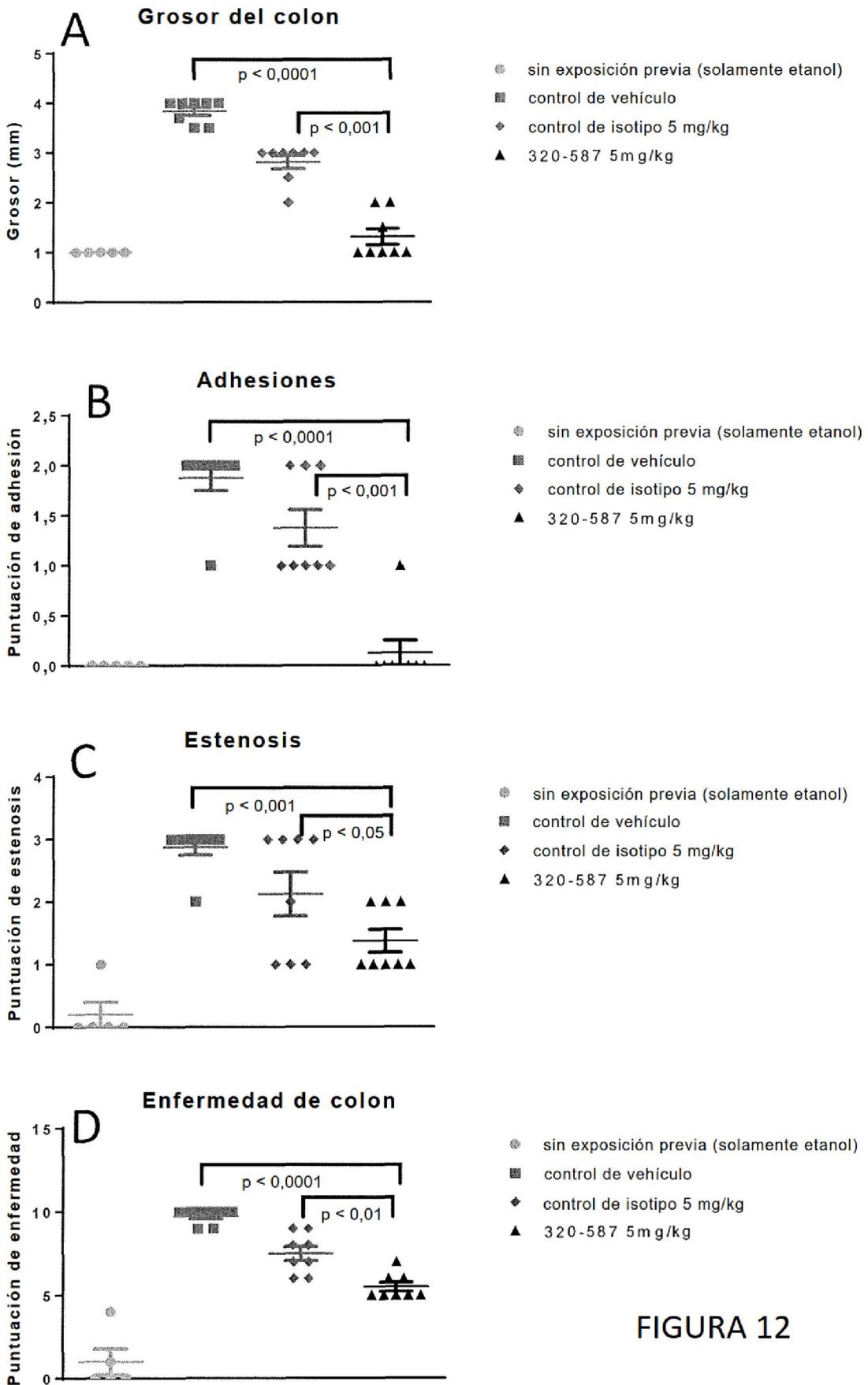


FIGURA 12

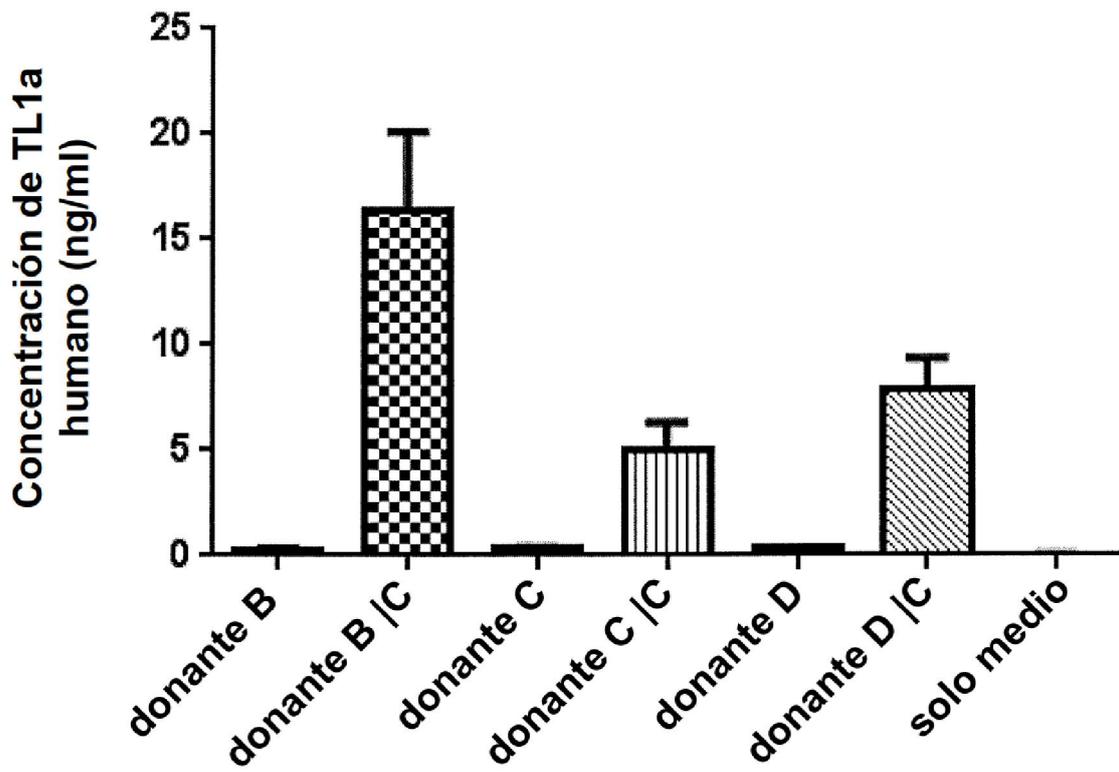


FIGURA 13

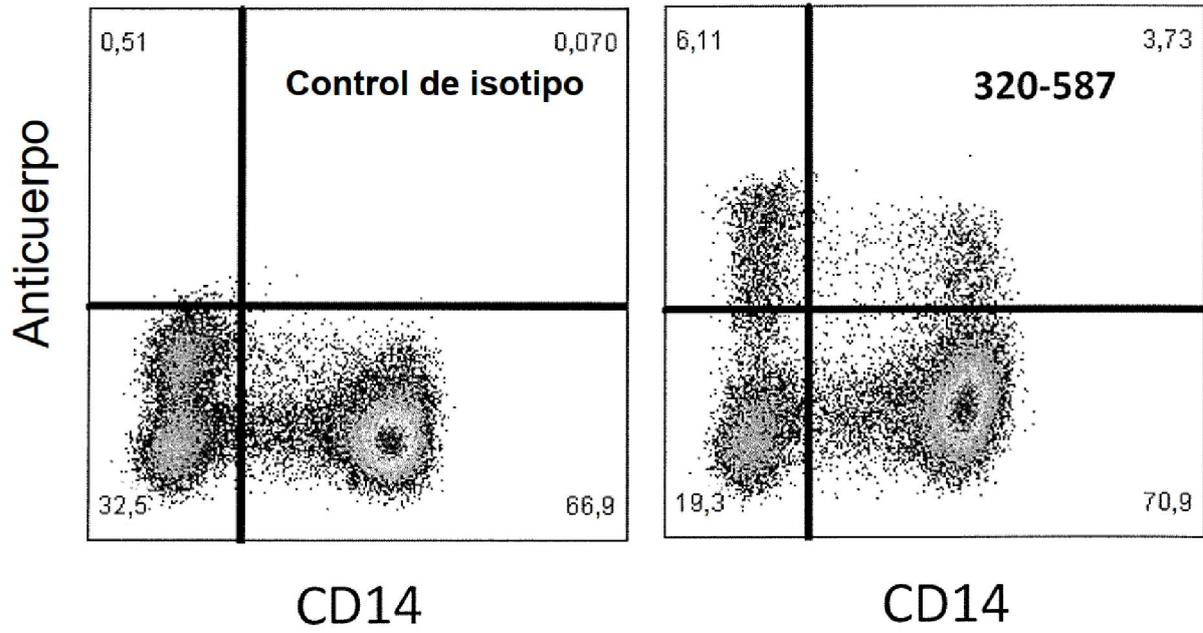


FIGURA 14

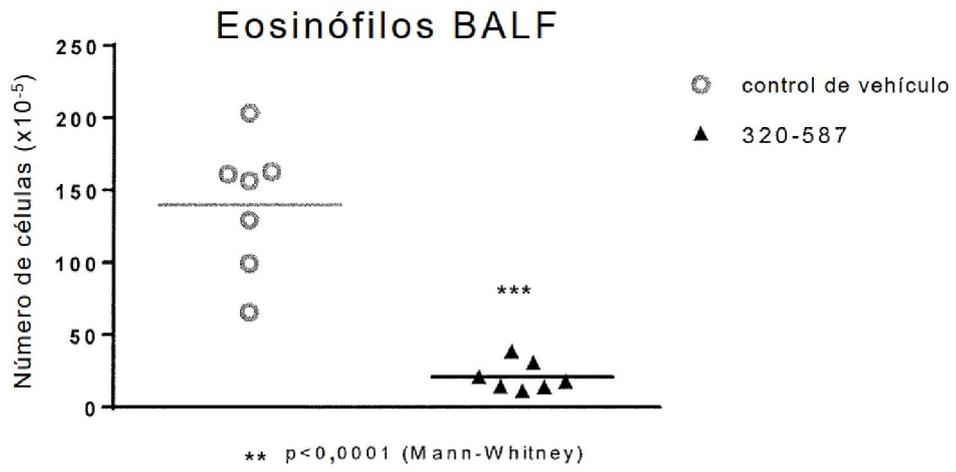


FIGURA 15

FIGURA 16A

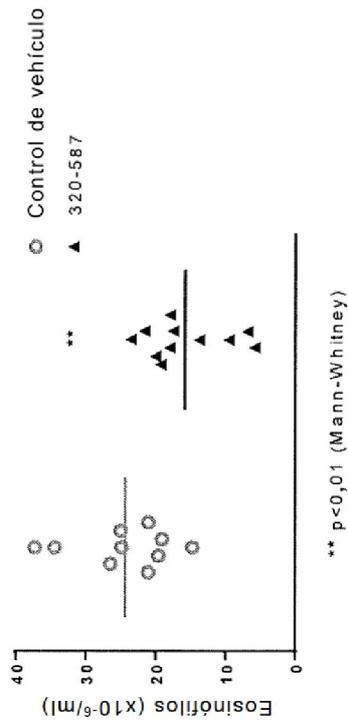


FIGURA 16B

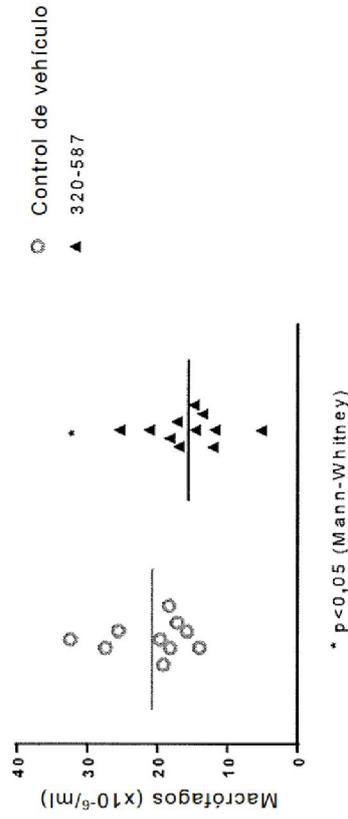


FIGURA 16C

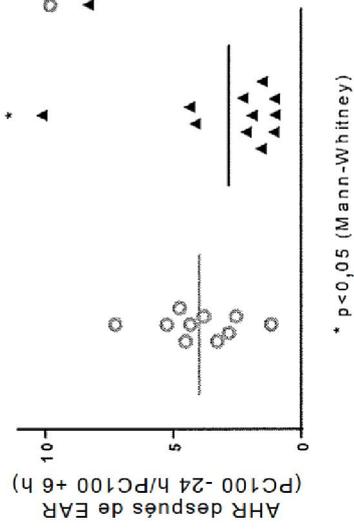


FIGURA 16D

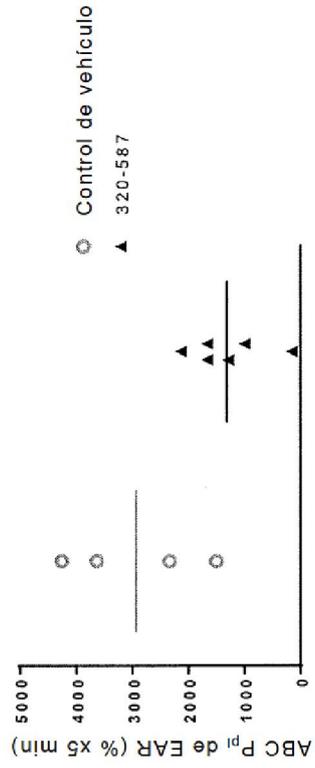


FIGURA 17A

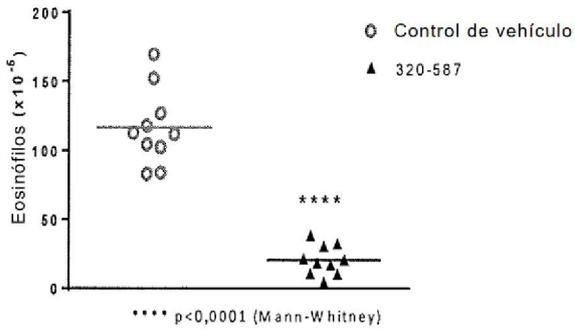


FIGURA 17B

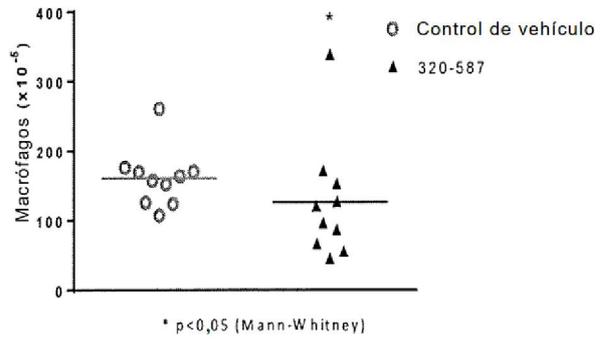


FIGURA 17C

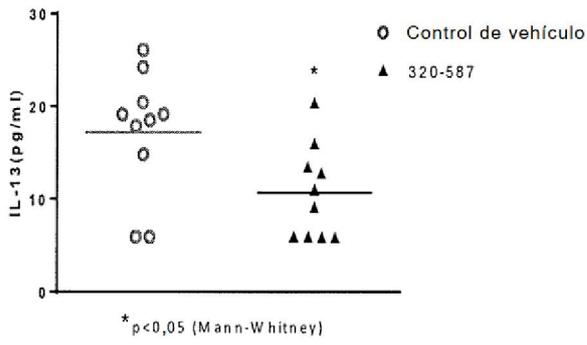


FIGURA 17D

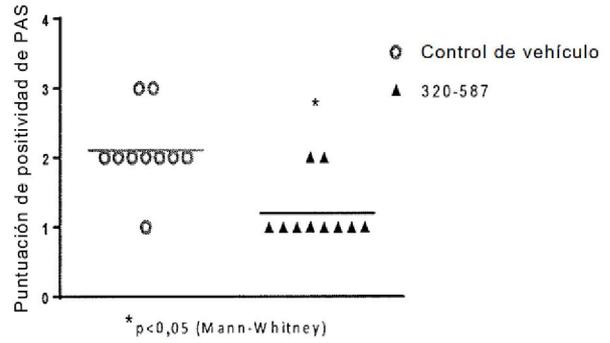
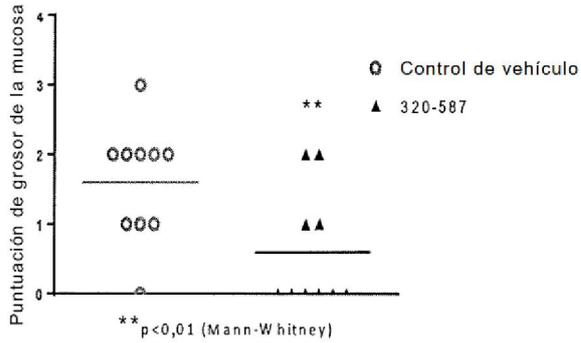


FIGURA 17E



**Dosis de ovoalbúmina necesaria para aumentar la obstrucción de las vías respiratorias en 100%**

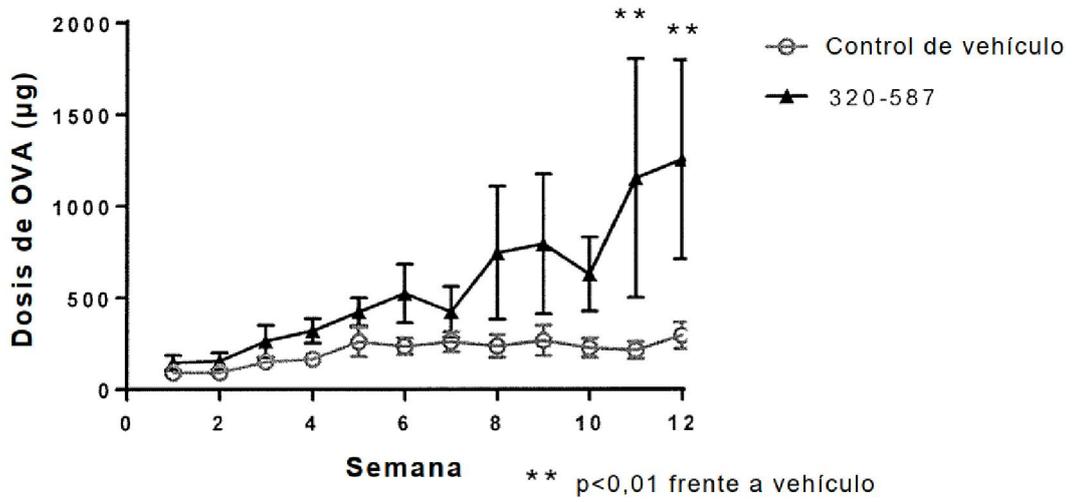


FIGURA 18



FIGURA 20A

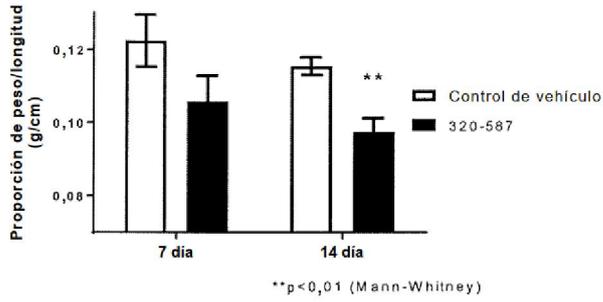


FIGURA 20B

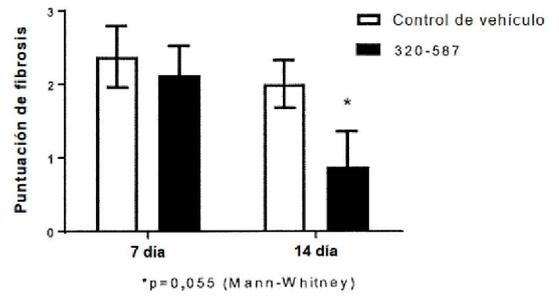


FIGURA 20C

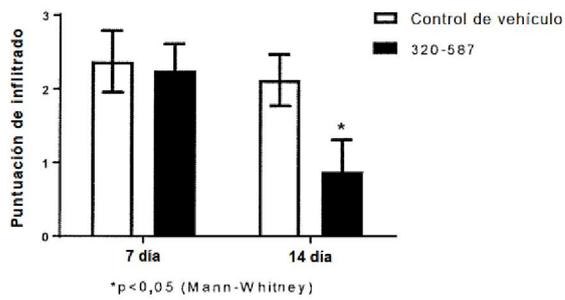


FIGURA 20D

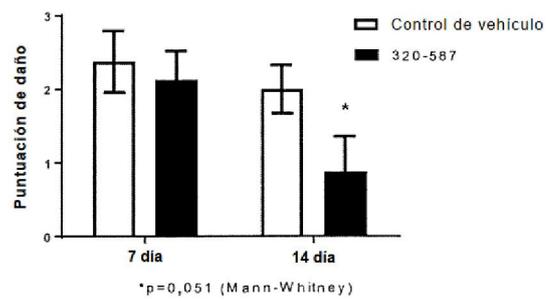


FIGURA 20E

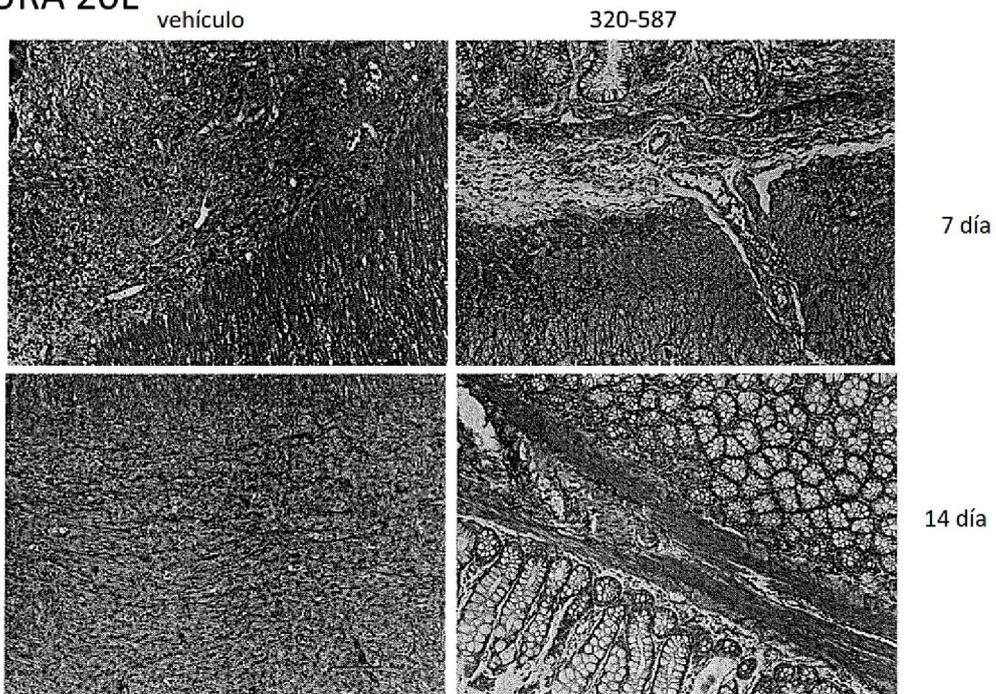


FIGURA 21A

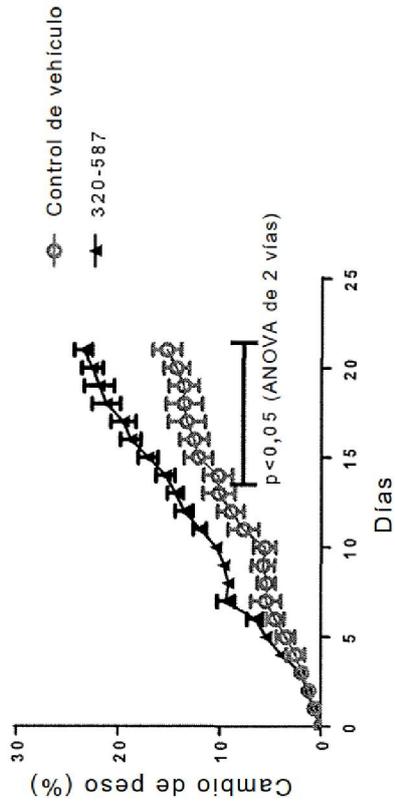


FIGURA 21B

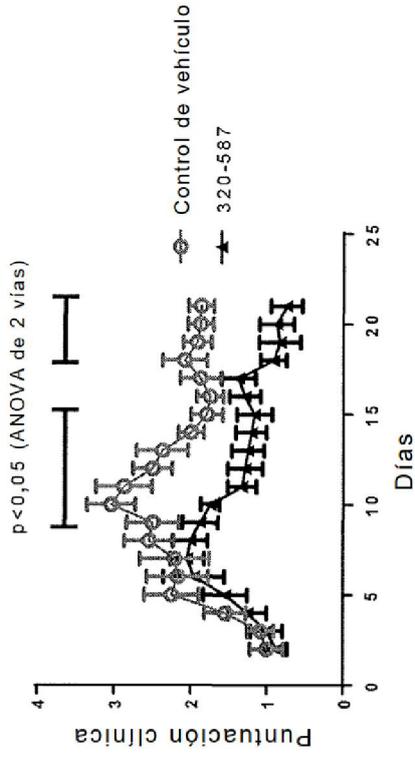
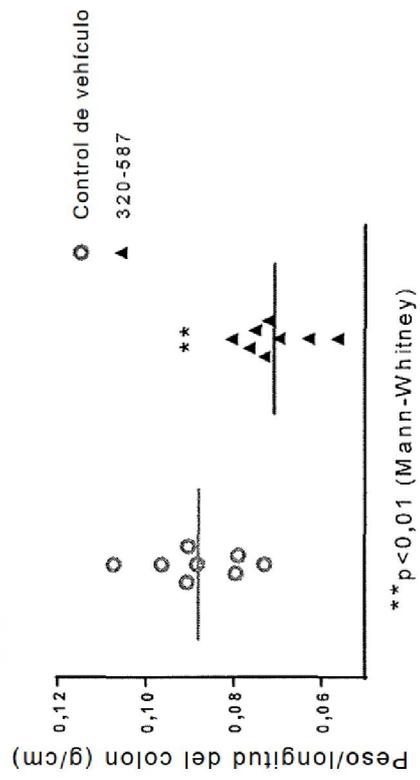


FIGURA 21C



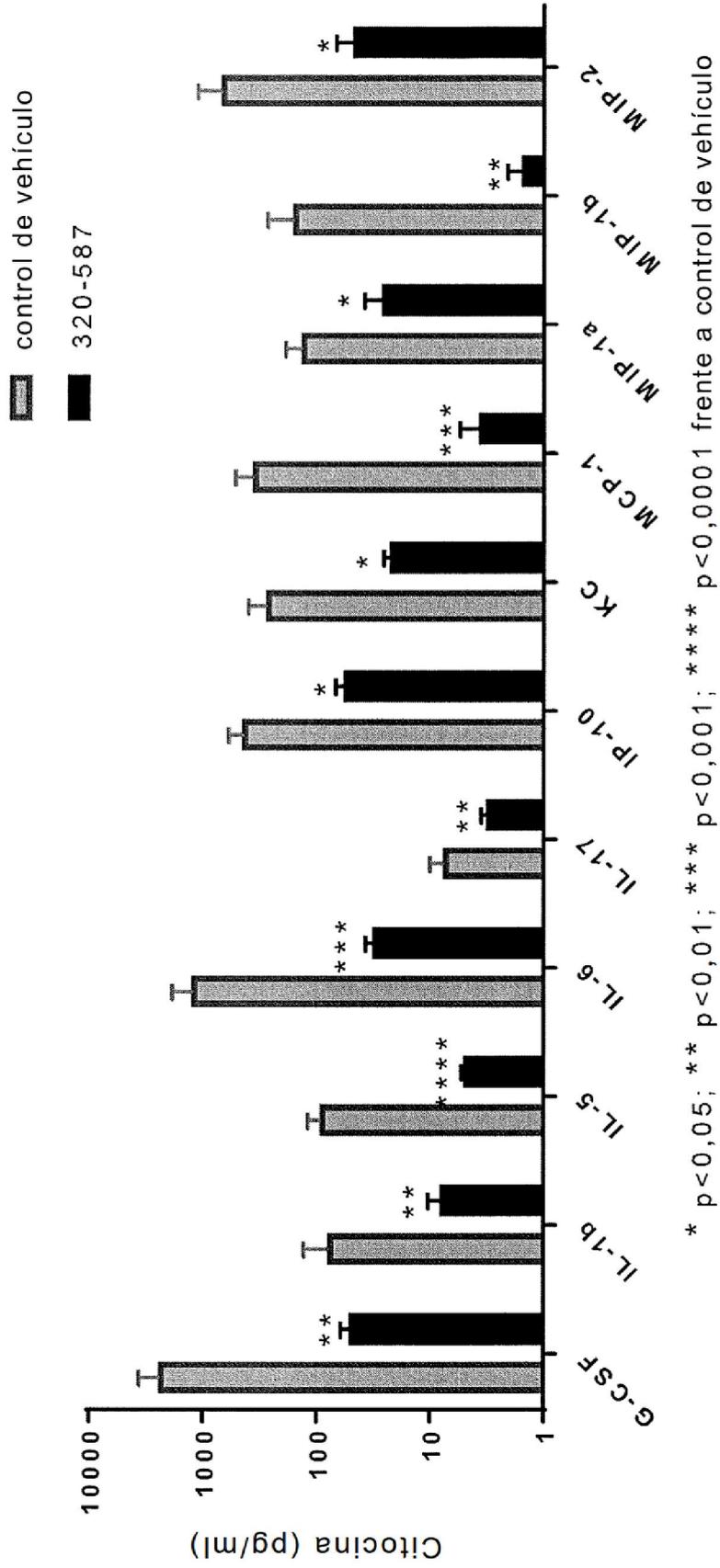


FIGURA 22