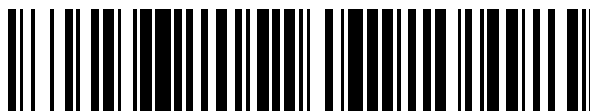


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 823 648**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.04.2014** **PCT/US2014/032550**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.10.2014** **WO14165524**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.04.2014** **E 14778764 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.07.2020** **EP 2981554**

54 Título: **Métodos y composiciones para tratar y prevenir enfermedades asociadas con la integrina AVB8**

30 Prioridad:

01.04.2013 US 201361807195 P

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

07.05.2021

73 Titular/es:

**THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF
CALIFORNIA (100.0%)
1111 Franklin Street, 12th Floor
Oakland, CA 94607, US**

72 Inventor/es:

**SHEPPARD, DEAN;
ATAKILIT, AMHA y
HENDERSON, NEIL COWAN**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 823 648 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

Métodos y composiciones para tratar y prevenir enfermedades asociadas con la integrina AVB8

5 Antecedentes de la invención

Los miembros de la familia de las integrinas reconocen una variedad de ligandos extracelulares restringidos espacialmente. Tradicionalmente, la unión de integrinas activa las señales citoplasmáticas en la célula que expresa integrina y contribuye a la adhesión, migración, proliferación y supervivencia celular. Al menos dos miembros de esta familia, $\alpha v\beta 6$ y $\alpha v\beta 8$, realizan una función adicional, la activación de complejos latentes del factor de crecimiento transformante β . En efecto, este proceso permite que las integrinas de una célula activen señales en células adyacentes (en el caso de $\alpha v\beta 6$) o cercanas (en el caso de $\alpha v\beta 8$). Se ha demostrado que la activación de TGF β mediada por integrinas desempeña un papel en, por ejemplo, la modulación de la fibrosis tisular, lesión pulmonar aguda y enfisema pulmonar. Mu *et al.* (J. Cell Biol. 157(3), 2002, páginas 493-507) describieron el anticuerpo monoclonal 37E1 que es específico de $\beta 8$ e inhibió la interacción entre $\alpha v\beta 8$ y el péptido asociado a latencia de TGF β 1 (LAP- β 1, por sus siglas en inglés). El documento WO2011/103490 igualmente divulgó el anticuerpo 37E1 y el hecho de que perturba la activación de TGF β mediada por $\alpha v\beta 8$.

Breve resumen

La invención es como se expone en el conjunto de reivindicaciones adjunto. Se considera que las realizaciones y/o ejemplos de la siguiente descripción que no están cubiertos por las reivindicaciones adjuntas no forman parte de la presente invención.

Se divulgan anticuerpos (p. ej., anticuerpos aislados) que se unen específicamente a la integrina $\beta 8$ humana e inhiben la adhesión del péptido asociado a latencia (LAP) a $\alpha v\beta 8$.

En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo reacciona de forma cruzada con la integrina $\beta 8$ de ratón. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo bloquea la activación de TGF β . En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo antagoniza la unión de LAP a $\alpha v\beta 8$ con una CI_{50} por debajo de 5 nM.

En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo compite por unirse con un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en ADWA-2 (ADWA-2, ADWA-2-1 y ADWA-2-2), ADWA-8 (ADWA-8, ADWA-8-1, ADWA-8-2, ADWA-8-3), ADWA-10, ADWA-11, ADWA-13 (ADWA-13, ADWA-13-1, ADWA-13-2), ADWA-15, ADWA-16, ADWA-25 y ADWA-20.

En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo comprende las regiones determinantes de complementariedad (CDR1, CDR2 y CDR3) de las regiones variables de cadena pesada y ligera de un anticuerpo seleccionado de ADWA-2 (ADWA-2, ADWA-2-1 y ADWA-2-2), ADWA-8 (ADWA-8, ADWA-8-1, ADWA-8-2, ADWA-8-3), ADWA-10, ADWA-11, ADWA-13 (ADWA-13, ADWA-13-1, ADWA-13-2), ADWA-15, ADWA-16, ADWA-25 y ADWA-20. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 determinadas por Chothia de las regiones variables de cadena pesada y ligera de un anticuerpo seleccionado de ADWA-2 (ADWA-2, ADWA-2-1 y ADWA-2-2), ADWA-8 (ADWA-8, ADWA-8-1, ADWA-8-2, ADWA-8-3), ADWA-10, ADWA-11, ADWA-13 (ADWA-13, ADWA-13-1, ADWA-13-2), ADWA-15, ADWA-16, ADWA-25 y ADWA-20. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 determinadas por Kabat de las regiones variables de cadena pesada y ligera de un anticuerpo seleccionado de ADWA-2 (ADWA-2, ADWA-2-1 y ADWA-2-2), ADWA-8 (ADWA-8, ADWA-8-1, ADWA-8-2, ADWA-8-3), ADWA-10, ADWA-11, ADWA-13 (ADWA-13, ADWA-13-1, ADWA-13-2), ADWA-15, ADWA-16, ADWA-25 y ADWA-20.

En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo comprende las regiones variables de cadena pesada y ligera de un anticuerpo seleccionado de ADWA-2 (ADWA-2, ADWA-2-1 y ADWA-2-2), ADWA-8 (ADWA-8, ADWA-8-1, ADWA-8-2, ADWA-8-3), ADWA-10, ADWA-11, ADWA-13 (ADWA-13, ADWA-13-1, ADWA-13-2), ADWA-15, ADWA-16, ADWA-25 y ADWA-20.

En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo comprende las CDR de cadena pesada (Chothia o Kabat) mostradas en las SEQ ID NO: 23-25, y las CDR de cadena ligera mostradas en las SEQ ID NO: 46-48. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo comprende las CDR de cadena pesada (Chothia o Kabat) mostradas en las SEQ ID NO: 23, 26 y 25 y las CDR de cadena ligera mostradas en las SEQ ID NO: 46-48. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo comprende las CDR de cadena pesada (Chothia o Kabat) mostradas en las SEQ ID NO: 27-29, y las CDR de cadena ligera mostradas en las SEQ ID NO: 46, 49 y 50. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo comprende las CDR de cadena pesada (Chothia o Kabat) mostradas en las SEQ ID NO: 30-32, y las CDR de cadena ligera mostradas en las SEQ ID NO: 51-53. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo comprende las CDR de cadena pesada (Chothia o Kabat) mostradas en las SEQ ID NO: 33-35, y las CDR de cadena ligera mostradas en las SEQ ID NO: 54-56. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo comprende las CDR de cadena pesada (Chothia o Kabat) mostradas en las SEQ ID NO: 36-38, y las CDR de cadena ligera mostradas en las SEQ ID NO: 57-59. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo comprende las CDR de cadena pesada (Chothia o Kabat) mostradas en las SEQ ID NO: 36, 39 y 38 y las CDR de cadena ligera mostradas en las SEQ ID

NO: 57-59. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo comprende las CDR de cadena pesada (Chothia o Kabat) mostradas en las SEQ ID NO: 40-42, y las CDR de cadena ligera mostradas en las SEQ ID NO: 60-62. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo comprende las CDR de cadena pesada (Chothia o Kabat) mostradas en las SEQ ID NO: 43-45, y las CDR de cadena ligera mostradas en las SEQ ID NO: 63.

Cualquiera de los anticuerpos descritos en el presente documento puede incluir una o más regiones marco conservadas humanas (p. ej., FR 1, 2, 3 o 4). En algunos aspectos de la divulgación, la una o más regiones marco conservadas humanas incluyen al menos una mutación inversa. También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los anticuerpos descritos en el presente documento.

También se divulgan ácidos nucleicos aislados que codifican cualquiera de los anticuerpos descritos en el presente documento (p. ej., SEQ ID NO: 66-87 y variantes conservativas de los mismos). También se proporcionan vectores de expresión que comprenden el ácido nucleico. También se proporcionan células hospedadoras aisladas que comprenden los vectores.

La invención proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a la integrina $\beta 8$ humana e inhibe la adhesión del péptido asociado a latencia (LAP) a $\alpha \nu \beta 8$, en donde el anticuerpo comprende:

- las regiones determinantes de complementariedad HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de las SEQ ID NO: 95, 31 y 32, respectivamente y
- las regiones determinantes de complementariedad LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de 10 SEQ ID NO: 51, 52 y 53, respectivamente.

También se proporciona el anticuerpo de la invención para su uso en un método para tratar o prevenir una enfermedad seleccionada de asma, esclerosis múltiple, lesión pulmonar aguda, artritis reumatoide, psoriasis y enfermedad pulmonar obstructiva crónica en un ser humano, comprendiendo el método administrar una cantidad suficiente de dicho anticuerpo al ser humano, tratando o previniendo así la enfermedad. En algunas realizaciones, el ser humano tiene una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en asma, esclerosis múltiple o lesión pulmonar aguda y al menos un síntoma de la enfermedad mejora mediante la activación reducida de TGF β . En algunas realizaciones, el ser humano tiene una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en artritis reumatoide, psoriasis y enfermedad pulmonar obstructiva crónica y al menos un síntoma de la enfermedad mejora mediante la activación reducida de TGF β .

También se describe un método para detectar la presencia o cantidad de integrina $\beta 8$ en una muestra biológica. En algunos casos, el método comprende poner en contacto la muestra biológica con un anticuerpo como se describe en el presente documento y detectar la presencia, ausencia o cantidad del anticuerpo unido específicamente a $\beta 8$ en la muestra. En algunos casos, el anticuerpo está enlazado a un marcador detectable, donde el marcador es fluorescente.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 proporciona gráficos de citometría de flujo de astrocitos primarios unidos por anticuerpos como se describe en el Ejemplo 1.

La Figura 2 muestra datos de experimentos de bloqueo de la adhesión de LAP como se describe en el Ejemplo 1.

La Figura 3 muestra datos para la activación de TGF β como se describe en el Ejemplo 1.

La Figura 4 muestra datos para el bloqueo de la activación de TGF β por ADWA-2 a las concentraciones indicadas. Los controles mostrados a la derecha incluyen el anticuerpo 1D11 específico para TGF β y sin anticuerpo.

La Figura 5 muestra datos para el bloqueo de la activación de TGF β por ADWA-11 a las concentraciones indicadas. Los controles mostrados a la derecha incluyen el anticuerpo 1D11 específico para TGF β y sin anticuerpo.

La Figura 6 muestra datos para el bloqueo de la activación de TGF β por ADWA-13 a las concentraciones indicadas. Los controles mostrados a la derecha incluyen el anticuerpo 1D11 específico para TGF β y sin anticuerpo.

La Figura 7 muestra datos para el bloqueo de la activación de TGF β por ADWA-15 a las concentraciones indicadas. Los controles mostrados a la derecha incluyen el anticuerpo 1D11 específico para TGF β y sin anticuerpo.

La Figura 8 muestra datos para el bloqueo de la activación de TGF β por ADWA-16 a las concentraciones indicadas. Los controles mostrados a la derecha incluyen el anticuerpo 1D11 específico para TGF β y sin anticuerpo.

La Figura 9 muestra datos para el bloqueo de la adhesión de LAP por ADWA-11. Las concentraciones de LAP para cada muestra son, de izquierda a derecha, 3 ug/ml, 1 ug/ml y 0,3 ug/ml. Los controles son sin anticuerpos (izquierda) y anticuerpo 3G9 específico para $\beta 6$ (centro).

La Figura 10 muestra datos para el bloqueo de la adhesión de LAP por ADWA-2 (izquierda) y ADWA-16 (derecha) a las concentraciones indicadas. LAP se puso en contacto con células a 1 ug/ml.

La Figura 11 muestra datos para el bloqueo de la adhesión de LAP por ADWA-11. Se muestran las concentraciones de LAP para cada muestra. Los controles son sin anticuerpos (izquierda) y anticuerpo 3G9 específico para $\beta 6$ (centro) para cada concentración de LAP.

La Figura 12 muestra datos para el bloqueo de la adhesión de LAP por ADWA-2, ADWA-8, ADWA-10, ADWA-11 y ADWA-13 a diversas concentraciones de anticuerpos. LAP se puso en contacto con células a 1 ug/ml. Para cada anticuerpo, de izquierda a derecha, la concentración fue de 10 ug/ml, 1 ug/ml y 0,1 ug/ml. Los resultados para el anticuerpo 3G9 de control se muestran a la derecha.

La Figura 13 muestra datos para el bloqueo de la adhesión de LAP por ADWA-15, ADWA-16, ADWA-20 y ADWA-25 a diversas concentraciones de anticuerpos. LAP se puso en contacto con células a 1 ug/ml. Para cada anticuerpo, de izquierda a derecha, la concentración fue de 10 ug/ml, 1 ug/ml y 0,1 ug/ml. Los resultados para el anticuerpo 3G9 de control se muestran a la derecha.

Descripción detallada de la invención

I. Introducción

Se describen diversos anticuerpos que se unen a la integrina $\beta 8$ humana y que inhiben la adhesión del péptido asociado a latencia (LAP).

II. Definiciones

Un "antagonista" se refiere a un agente que se une a una integrina (p. ej., $\text{Av}\beta 8$) y bloquea parcial o totalmente la estimulación, disminuye, previene, retrasa la activación, inactiva, desensibiliza o regula negativamente la actividad de la integrina.

Los términos "idéntico" o porcentaje de "identidad", en el contexto de dos o más secuencias de los ácidos nucleicos o polipéptidos, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o tienen un porcentaje especificado de restos de aminoácidos o nucleótidos que son los mismos (es decir, aproximadamente un 60 % de identidad, preferentemente un 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o una identidad mayor en una región especificada, cuando se comparan y se alinean para determinar la correspondencia máxima en una ventana de comparación o región designada) como se mide utilizando algoritmos de comparación de secuencias BLAST o BLAST 2.0 con los parámetros predeterminados descritos a continuación, o mediante alineación manual e inspección visual (véase, p. ej., sitio web de NCBI ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/ o similares). Por lo tanto, se dice que tales secuencias son "sustancialmente idénticas". La presente divulgación proporciona, p. ej., anticuerpos que tienen secuencias de polinucleótidos o polipéptidos que tienen al menos un 80 % de identidad, p. ej., 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad, con una secuencia de referencia, p. ej., CDR o regiones variables de cualquiera de los anticuerpos ADWA-2, ADWA-8, ADWA-10, ADWA-11, ADWA-13, ADWA-15, ADWA-16, ADWA-25 y ADWA-20. Como se describe a continuación, los algoritmos preferidos pueden tener en cuenta huecos y similares. Preferentemente, existe identidad a lo largo de una región que tiene al menos aproximadamente 25 aminoácidos o nucleótidos de longitud, o más preferentemente, en una región que tiene 50-100 aminoácidos o nucleótidos de longitud.

Para la comparación de secuencias, normalmente una secuencia actúa como secuencia de referencia, con la que se comparan las secuencias de prueba. Cuando se usa un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias de prueba y de referencia se introducen en un ordenador, se designan las coordenadas de subsecuencia, si fuera necesario, y se designan los parámetros del programa del algoritmo de secuencias. Preferentemente, se pueden usar los parámetros predeterminados del programa, o se pueden designar parámetros alternativos. El algoritmo de comparación de secuencias calcula entonces el porcentaje de identidades de secuencia para las secuencias de prueba respecto a la secuencia de referencia, basándose en los parámetros del programa.

Una "ventana de comparación", como se usa en el presente documento, incluye la referencia a un segmento de una cualquiera del número de posiciones contiguas seleccionadas del grupo que consiste en de 20 a 600, habitualmente, de aproximadamente 50 a aproximadamente 200, más habitualmente, de aproximadamente 100 a aproximadamente 150 en el que se puede comparar una secuencia con una secuencia de referencia del mismo número de posiciones contiguas después de que las dos secuencias estén alineadas de manera óptima. Los métodos de alineación de secuencias para comparación se conocen bien en la técnica. La alineación óptima de secuencias para la comparación puede realizarse, p. ej., mediante el algoritmo de homología local de Smith y Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981), mediante el algoritmo de alineación de homología de Needleman y Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970), mediante el método de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988), mediante implementaciones informatizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el Paquete de Programa informático de Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), o mediante

alineación manual e inspección visual (véase, p. ej., *Current Protocols in Molecular Biology* (Ausubel *et al.*, eds. 1995 supplement)).

Un algoritmo que es adecuado para determinar el porcentaje de identidad de secuencia y la similitud de secuencia son los algoritmos BLAST y BLAST 2.0., que se describen en Altschul *et al.*, *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402 (1977) y en Altschul *et al.*, *J. Mol. Biol.* 215:403-410 (1990), respectivamente. Se usan BLAST y BLAST 2.0, con los parámetros descritos en el presente documento, para determinar el porcentaje de identidad de secuencia para los ácidos nucleicos y proteínas de la invención. El programa informático para realizar análisis BLAST está disponible al público a través del National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Este algoritmo implica identificar en primer lugar pares de secuencias de alta puntuación (HSP, por sus siglas en inglés) identificando palabras cortas de longitud W en la secuencia de consulta, que coinciden o satisfacen alguna puntuación umbral de valor positivo T cuando se alinea con una palabra de la misma longitud en una secuencia de la base de datos. T se refiere al umbral de la puntuación de palabra adyacente (Altschul *et al.*, *supra*). Estos aciertos de palabra adyacente iniciales actúan como semillas para iniciar búsquedas para encontrar HSP más largos que los contengan. Los aciertos de palabra se prolongan en ambas direcciones a lo largo de cada secuencia todo el tiempo que pueda aumentarse la puntuación de alineación acumulativa. Las puntuaciones acumulativas se calculan usando, para secuencias de nucleótidos, los parámetros M (puntuación de recompensa para un par de restos coincidentes; siempre > 0) y N (puntuación de penalización para restos no coincidentes; siempre < 0). Para las secuencias de aminoácidos, se usa una matriz de puntuaciones para calcular la puntuación acumulativa. La prolongación de los aciertos de palabra en cada dirección se detiene cuando: la puntuación de alineación acumulativa queda fuera por una cantidad X de su valor máximo obtenido; la puntuación acumulativa llega a cero o menos, debido a la acumulación de una o más alineaciones de restos con puntuación negativa; o se alcanza el final de una de las secuencias. Los parámetros del algoritmo BLAST W, T y X determinan la sensibilidad y velocidad de la alineación. El programa BLASTN (para secuencias de nucleótidos) usa por defecto una longitud de palabra (W) de 11, una expectativa (E) de 10, M= 5, N = -4 y una comparación de ambas cadenas. Para las secuencias de aminoácidos, el programa BLASTP utiliza como valores predeterminados una longitud de palabra de 3, y expectativa (E) de 10, y la matriz de puntuación BLOSUM62 (véase Henikoff y Henikoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915 (1989)) alineaciones (B) de 50, expectativa (E) de 10, M= 5, N = -4 y una comparación de ambas cadenas.

"Ácido nucleico" se refiere a desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos y polímeros de los mismos en forma de cadena simple o doble y complementos de los mismos. La expresión abarca ácidos nucleicos que contienen análogos de nucleótidos conocidos o restos o enlaces modificados de la cadena principal, que son sintéticos, de origen natural y de origen no natural, que tienen propiedades de unión similares a las del ácido nucleico de referencia y que se metabolizan de forma similar a los nucleótidos de referencia. Ejemplos de dichos análogos incluyen, sin limitación, fosforotioatos, fosforoamidatos, metil fosfonatos, metil fosfonatos quirales, 2-O-metil ribonucleótidos, ácidos nucleicos peptídicos (ANP).

Salvo que se indique lo contrario, una secuencia particular de un ácido nucleico también abarca implícitamente variantes modificadas de manera conservativa de la misma (p. ej., sustituciones de codones degenerados) y secuencias complementarias, así como la secuencia indicada explícitamente. En concreto, las sustituciones de codones degenerados se pueden lograr mediante la generación de secuencias en las que la tercera posición de uno o más (o todos) codones seleccionados se sustituye con restos de base mixta y/o de desoxiinosina (Batzer *et al.*, *Nucleic Acid Res.* 19:5081 (1991); Ohtsuka *et al.*, *J. Biol. Chem.* 260:2605-2608 (1985); Rossolini *et al.*, *Mol. Cell. Probes* 8:91-98 (1994)).

Los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína" se utilizan indistintamente en el presente documento para referirse a un polímero de restos de aminoácidos. Los términos abarcan polímeros de aminoácidos en los que uno o más restos de aminoácidos son un mimético químico artificial de un aminoácido de origen natural correspondiente, así como a polímeros de aminoácidos de origen natural y polímeros de aminoácidos de origen no natural.

El término "aminoácidos" se refiere a aminoácidos de origen natural o sintéticos, así como a análogos de aminoácidos y miméticos de aminoácidos que funcionan de una manera similar a los aminoácidos de origen natural. Los aminoácidos de origen natural son los codificados mediante el código genético, así como aquellos aminoácidos que se modifican posteriormente, p. ej., hidroxiprolina, γ -carboxiglutamato, y O-fosfoserina. Análogos de aminoácidos se refiere a los compuestos que tienen la misma estructura química básica que la de un aminoácido de origen natural, es decir, un carbono α que está unido a un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino, y un grupo R, p. ej., homoserina, norleucina, metionina sulfóxido, metionina metil sulfonio. Dichos análogos pueden tener grupos R modificados (p. ej., norleucina) o cadenas principales peptídicas modificadas, pero conservan la misma estructura química básica que un aminoácido de origen natural. Aminoácidos miméticos se refiere a compuestos químicos que tienen una estructura que es diferente de la estructura química general de un aminoácido, pero que funcionan de manera similar a un aminoácido de origen natural.

Los aminoácidos se pueden citar en el presente documento bien por sus símbolos habitualmente conocidos de tres letras, o mediante los símbolos de una letra recomendados por la Comisión de Nomenclatura bioquímica de la IUPAC-IUB. Los nucleótidos, asimismo, se pueden mencionar por sus códigos de una letra habitualmente aceptados.

"Variantes modificadas de forma conservativa" se aplica a secuencias tanto de aminoácidos como de los ácidos nucleicos. Con respecto a secuencias de los ácidos nucleico concretas, variantes modificadas de manera conservativa se refiere a aquellos ácidos nucleicos que codifican secuencias de aminoácidos idénticas o esencialmente idénticas, o donde el ácido nucleico no codifica una secuencia de aminoácidos, a secuencias prácticamente idénticas. A causa de la degeneración del código genético, un gran número de ácidos nucleicos funcionalmente idénticos codifican cualquier proteína dada. Por ejemplo, los codones GCA, GCC, GCG y GCU codifican, todos ellos, el aminoácido alanina. Por lo tanto, en cada posición donde una alanina se especifica mediante un codón, el codón se puede alterar a cualquiera de los correspondientes codones descritos sin alterar el polipéptido codificado. Dichas variaciones de ácido nucleico se denominan "variaciones silenciosas", que son un tipo de variaciones modificadas de forma conservativa. Cada secuencia de un ácido nucleico del presente documento que codifica un polipéptido también describe todas las posibles variaciones silenciosas del ácido nucleico. Un experto reconocerá que cada codón en un ácido nucleico (excepto AUG, que normalmente es el único codón para metionina, y TGG, que es normalmente el único codón para triptófano) se puede modificar con el fin de conseguir una molécula funcionalmente idéntica. En consecuencia, cada variación silenciosa de un ácido nucleico que codifica un polipéptido está implícita en cada secuencia descrita con respecto al producto de expresión, pero no con respecto a secuencias de sonda reales.

Como secuencias de aminoácidos, un experto reconocerá que las sustituciones, delecciones o adiciones individuales a una secuencia de un ácido nucleico, péptido, polipéptido o proteína que altera, añade o elimina un único aminoácido o un pequeño porcentaje de aminoácidos de la secuencia codificada es una "variante modificada de manera conservativa" donde la alteración da como resultado la sustitución de un aminoácido por un aminoácido químicamente similar. Las tablas de sustituciones conservativas que proporcionan aminoácidos funcionalmente similares son bien conocidas en la técnica. Dichas variantes modificadas de manera conservativa son adicionales, y no excluyen, las variantes polimórficas, homólogos interespecíficos, y alelos de la invención.

Los ocho grupos siguientes contienen, cada uno, aminoácidos que son sustituciones conservativas entre sí: 1) Alanina (A), Glicina (G); 2) Ácido aspártico (D), Ácido glutámico (E); 3) Asparagina (N), Glutamina (Q); 4) Arginina (R), Lisina (K); 5) Isoleucina (I), Leucina (L), Metionina (M), Valina (V); 6) Fenilalanina (F), Tirosina (Y), Triptófano (W); 7) Serina (S), Treonina (T); y 8) Cisteína (C), Metionina (M) (véase, p. ej., Creighton, *Proteins* (1984)).

Un "marcador" o un "resto detectable" es una composición detectable por medios espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, inmunoquímicos, químicos u otros físicos. Por ejemplo, marcadores útiles incluyen ³²P, tintes fluorescentes, reactivos densos en electrones, enzimas (p. ej., como se usa comúnmente en un ELISA), biotina, digoxigenina, o haptenos y proteínas que se pueden volver detectables, p. ej., incorporando un radiomarcador en el péptido o usado para detectar anticuerpos específicamente reactivos con el péptido.

El término "recombinante" cuando se utiliza en referencia, p. ej., a una célula, o ácido nucleico, proteína, o vector, indica que la célula, ácido nucleico, proteína o vector, se ha modificado mediante la introducción de un ácido nucleico o proteína heterólogos o la alteración de un ácido nucleico o proteína natural, o que la célula deriva de una célula modificada de esta forma. Por lo tanto, por ejemplo, las células recombinantes expresan genes que no se encuentran en la forma natural (no recombinante) de la célula o expresan genes naturales que de otra forma se expresarían de forma anómala, expresados en baja cantidad, o no expresados en absoluto.

El término "heterólogo" cuando se utiliza con referencia a las porciones de un ácido nucleico indica que el ácido nucleico comprende dos o más subsecuencias que no se encuentran en la misma relación entre sí en la naturaleza. Por ejemplo, el ácido nucleico se produce, de forma típica, de manera recombinante, teniendo dos o más secuencias de genes no relacionados dispuestos para fabricar un ácido nucleico funcional nuevo, p. ej., un promotor de una fuente y una región codificante procedente de otra fuente. De manera similar, una proteína heteróloga indica que la proteína comprende dos o más subsecuencias que no se encuentran en la misma relación entre sí en la naturaleza (p. ej., una proteína de fusión).

Un anticuerpo como se describe en el presente documento puede consistir en uno o más polipéptidos sustancialmente codificados por genes de inmunoglobulina o fragmentos de genes de inmunoglobulina. Los genes de inmunoglobulina reconocidos incluyen genes de región constante kappa, lambda, alfa, gamma, delta, épsilon y mu de inmunoglobulina, así como la miríada de genes de región variable de inmunoglobulina. Las cadenas ligeras se clasifican en kappa o lambda. Las cadenas pesadas se clasifican en gamma, mu, alfa, delta o épsilon, que a su vez definen las clases de inmunoglobulinas, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo es IgG (p. ej., IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgM, IgA, IgD o IgE.

Se sabe que una unidad estructural de inmunoglobulina (anticuerpo) típica comprende un tetrámero. Cada tetrámero se compone de dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas, teniendo cada par una cadena "ligera" (aproximadamente 25 kD) y una cadena "pesada" (aproximadamente 50-70 kD). El extremo N de cada cadena define una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos principalmente responsable del reconocimiento de antígenos. Los términos cadena ligera variable (V_L) y cadena pesada variable (V_H) se refieren a estas cadenas ligeras y pesadas respectivamente.

El término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, incluye fragmentos de anticuerpos que conservan la

especificidad de unión. Por ejemplo, hay varios fragmentos de anticuerpos bien caracterizados. Por lo tanto, por ejemplo, la pepsina digiere un anticuerpo C-terminal en los enlaces disulfuro en la región de bisagra para producir F(ab)'₂, un dímero de Fab que es, él mismo, una cadena ligera unida a V_H-CH1 mediante un enlace disulfuro. El F(ab)'₂ se puede reducir en condiciones suaves para romper el enlace disulfuro en la región de bisagra, convirtiendo, de ese modo, el dímero F(ab)'₂ en un monómero Fab'. El monómero Fab' es esencialmente un Fab con parte de la región de bisagra (véase, Fundamental Immunology, W.E. Paul, ed., Raven Press, N.Y. (1993), para una descripción más detallada de otros fragmentos de anticuerpos). Aunque varios fragmentos de anticuerpos se definen en términos de la digestión de un anticuerpo intacto, un experto apreciará que los fragmentos se pueden sintetizar de novo ya sea químicamente o utilizando metodología de ADN recombinante. Por lo tanto, el término "anticuerpo", como se usa en el presente documento también incluye fragmentos de anticuerpos producidos ya sea por la modificación de anticuerpos completos o sintetizados usando metodologías de ADN recombinante.

En un anticuerpo, las variantes de sustitución tienen al menos un resto de aminoácido eliminado y un resto diferente insertado en su lugar. Los sitios de mayor interés para la mutagénesis de sustitución incluyen las regiones hipervariables, pero se contemplan también alteraciones de las regiones marco conservadas. Ejemplos de sustituciones conservativas se describen anteriormente.

Se logran modificaciones sustanciales en las propiedades biológicas del anticuerpo seleccionando sustituciones que difieren significativamente en su efecto en el mantenimiento (a) de la estructura la cadena principal del polipéptido en la zona de la sustitución, por ejemplo, como una hoja β o una conformación helicoidal, (b) de la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio diana o (c) del volumen de la cadena lateral. Los restos de origen natural se dividen en grupos basándose en las propiedades comunes de la cadena lateral:

- (1) No polares: Norleucina, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- (2) Polares sin carga: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- (3) Ácidos (cargado negativamente): Asp, Glu;
- (4) Básicos (cargado positivamente): Lys, Arg;
- (5) Restos que influyen en la orientación de la cadena: Gly, Pro; y
- (6) Aromáticos: Trp, Tyr, Phe, His.

Las sustituciones no conservativas se realizan por intercambio de un miembro de una de estas clases por otra clase.

Un tipo de sustitución que se puede realizar es cambiar una o más cisteínas en el anticuerpo, que pueden ser químicamente reactivas, a otro resto, tal como, sin limitación, alanina o serina. Por ejemplo, puede haber una sustitución de una cisteína no canónica. La sustitución se puede realizar en una CDR o región marco conservada de un dominio variable o en la región constante de un anticuerpo. En algunos aspectos de la divulgación, la cisteína es canónica (p. ej., implicada en la formación de enlaces disulfuro). También puede sustituirse cualquier resto de cisteína no implicado en el mantenimiento de la conformación apropiada del anticuerpo, en general con serina, para mejorar la estabilidad oxidativa de la molécula y evitar entrecruzamiento anómalo. En cambio, pueden añadirse enlaces de cisteína al anticuerpo para mejorar su estabilidad, particularmente cuando el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo tal como un fragmento Fv.

Los anticuerpos incluyen dímeros V_H-V_L, incluyendo anticuerpos de cadena sencilla (anticuerpos que existen como una cadena polipeptídica sencilla), tales como anticuerpos Fv de cadena sencilla (sFv o scFv) en los que una región pesada variable y una región ligera variable se unen entre sí (directamente o mediante un enlazador peptídico) para formar un polipéptido continuo. El anticuerpo Fv de cadena sencilla es un V_H-V_L unido covalentemente que puede expresarse a partir de un ácido nucleico que incluye secuencias que codifican V_H- y V_L- unidas directamente o unidas por un enlazador que codifica un péptido (p. ej., Huston, *et al.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 85:5879-5883, 1988). Mientras que el V_H y V_L están conectados entre sí como una cadena polipeptídica sencilla, los dominios V_H y V_L se asocian de forma no covalente. Como alternativa, el anticuerpo puede ser otro fragmento. También se pueden generar otros fragmentos, p. ej., usando técnicas recombinantes, como proteínas solubles o como fragmentos obtenidos a partir de métodos de presentación. Los anticuerpos también pueden incluir diaanticuerpos y minianticuerpos. Los anticuerpos de la invención también incluyen dímeros de cadena pesada, tal como los anticuerpos de los camélidos.

Como se usa en el presente documento, "Región V" se refiere a un dominio de región variable de anticuerpo que comprende los segmentos de la región marco conservada (FW, por sus siglas en inglés) 1, región determinante de complementariedad (CDR) 1, FW2, CDR2, FW3, CDR3 y Región marco conservada 4. La región V para las cadenas pesada y ligera se denomina comúnmente V_H y V_L, respectivamente, o con términos similares. La región V está incluida en los fragmentos de anticuerpos Fab, F(ab)'₂, Fv y scFv descritos en el presente documento e implicados en el reconocimiento de antígenos específicos.

Como se usa en el presente documento, "región determinante de complementariedad (CDR)" se refiere a las tres regiones hipervariables en cada cadena que interrumpen las cuatro regiones "marco conservadas(FW)" establecidas por las regiones variables de cadena ligera y pesada. Las CDR son responsables principalmente de la unión a un epítipo de un antígeno. Las CDR de cada cadena se denominan normalmente CDR1, CDR2 y CDR3, numeradas secuencialmente a partir del extremo N, y también se identifican normalmente por la cadena en la que está ubicada la

CDR particular. Por lo tanto, una CDR3 de V_H está ubicada en el dominio variable de la cadena pesada del anticuerpo en el que se encuentra, mientras que una CDR1 de V_L es la CDR1 del dominio variable de la cadena ligera del anticuerpo en el que se encuentra.

- 5 Las secuencias de las regiones marco conservadas de diferentes cadenas ligeras o pesadas están relativamente conservadas dentro de una especie. La región marco conservada de un anticuerpo, es decir, las regiones marco conservadas combinadas de las cadenas ligeras y pesadas constituyentes, sirve para colocar y alinear las CDR en el espacio tridimensional.
- 10 Las secuencias de aminoácidos de las CDR y las regiones marco conservadas se pueden determinar usando varias definiciones bien conocidas en la técnica, p. ej., Kabat, Chothia, base de datos internacional ImMunoGeneTics (IMGT), y AbM (véase, p. ej., Johnson *et al.*, *supra*; Chothia & Lesk, 1987, Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins. J. Mol. Biol. 196, 901-917; Chothia C. *et al.*, 1989, Conformations of immunoglobulin hypervariable regions. Nature 342, 877-883; Chothia C. *et al.*, 1992, structural repertoire of the human VH segments J. Mol. Biol. 227, 799-817; Al-Lazikani *et al.*, J. Mol. Biol. 1997, 273(4)). Definitions of antigen combining sites are also described in the following: Ruiz *et al.*, IMGT, la base de datos internacional ImMunoGeneTics. Nucleic Acids Res., 28, 219-221 (2000); y Lefranc, M.-P. IMGT, la base de datos internacional ImMunoGeneTics. Nucleic Acids Res. 1 de enero;29(1):207-9, 2001); MacCallum *et al.*, Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography, J. Mol. Biol., 262 (5), 732-745 (1996); y Martin *et al.*, Proc. Natl Acad. Sci. USA, 86, 9268-9272 (1989); Martin, *et al.*, Methods Enzymol., 203, 121-153, (1991); Pedersen *et al.*, Immunomethods, 1, 126, (1992); y Rees *et al.*, En Sternberg M.J.E. (ed.), Protein Structure Prediction. Oxford University Press, Oxford, 141-172 1996).
- 15
- 20

25 Como se usa en el presente documento, "anticuerpo quimérico" se refiere a una molécula de inmunoglobulina en la que (a) la región constante, o una porción de la misma, se altera, sustituye o intercambia de forma que el sitio de unión a antígeno (región variable) esté enlazado a una región constante de una clase, función efectora y/o especie diferente o alterada, o una molécula completamente diferente que confiere nuevas propiedades al anticuerpo quimérico, p. ej., una enzima, toxina, hormona, factor de crecimiento, fármaco, etc.; o (b) la región variable, o una porción de la misma, se altera, reemplaza o intercambia con una región variable, o una porción de la misma, que tiene una especificidad antigénica diferente o alterada; o con secuencias correspondientes de otra especie o de otra clase o subclase de anticuerpos.

30

Como se usa en el presente documento, "anticuerpo humanizado" se refiere a una molécula de inmunoglobulina en la que las CDR de un anticuerpo donante se injertan en secuencias marco conservadas humanas. Los anticuerpos humanizados también pueden comprender restos de origen donante en las secuencias marco conservadas. El anticuerpo humanizado también puede comprender al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina humana. Los anticuerpos humanizados también pueden comprender restos que no se encuentran en el anticuerpo receptor ni en las secuencias CDR o marco conservadas importadas. La humanización se puede realizar usando métodos conocidos en la técnica (p. ej., Jones *et al.*, Nature 321:522-525; 1986; Riechmann *et al.*, Nature 332:323-327, 1988; Verhoeven *et al.*, Science 239:1534-1536, 1988); Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596, 1992; la Patente de EE.UU n.º 4.816.567), que incluyen técnicas tal como los anticuerpos "sobrehumanizantes" (Tan *et al.*, J. Immunol. 169: 1119, 2002) y los anticuerpos "resurgentes" (p. ej., Staelens *et al.*, Mol. Immunol. 43: 1243, 2006; y Roguska *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci USA 91: 969, 1994).

35

40

Los términos "antígeno", "inmunógeno", "diana de anticuerpos", "analito diana", y términos similares se usan en el presente documento para referirse a una molécula, compuesto o complejo que es reconocido por un anticuerpo, es decir, puede unirse específicamente al anticuerpo. El término puede referirse a cualquier molécula que pueda ser reconocida específicamente por un anticuerpo, p. ej., un polipéptido, polinucleótido, hidrato de carbono, lípido, resto químico, o combinaciones de los mismos (p. ej., polipéptidos fosforilados o glicosilados, etc.). Un experto comprenderá que el término no indica que la molécula sea inmunogénica en todos los contextos, sino simplemente indica que puede ser dirigido por un anticuerpo.

45

50

Los anticuerpos se unen a un "epítipo" de un antígeno. El epítipo es el sitio localizado en el antígeno que se reconoce y une por el anticuerpo. Los epítipos pueden incluir algunos aminoácidos o porciones de algunos aminoácidos, p. ej., 5 o 6, o más, p. ej., 20 o más aminoácidos, o porciones de esos aminoácidos. En algunos casos, el epítipo incluye componentes no proteicos, p. ej., de un carbohidrato, ácido nucleico o lípido. En algunos casos, el epítipo es un resto tridimensional. Por lo tanto, por ejemplo, cuando la diana es una proteína, el epítipo puede estar compuesto por aminoácidos consecutivos, o aminoácidos de diferentes partes de la proteína que se acercan mediante el plegamiento de la proteína (p. ej., un epítipo discontinuo). Lo mismo ocurre con otros tipos de moléculas diana que forman estructuras tridimensionales. Un epítipo normalmente incluye al menos 3, y más habitualmente, al menos 5 u 8-10 aminoácidos en una conformación espacial única. Los métodos para determinar la conformación espacial de los epítipos incluyen, por ejemplo, cristalografía de rayos x y resonancia magnética nuclear en 2 dimensiones. Véase, p. ej., Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, Glenn E. Morris, Ed (1996).

55

60

Un "marcador" o un "resto detectable" es un agente o componente diagnóstico detectable por medios espectroscópicos, radiológicos, fotoquímicos, bioquímicos, immunoquímicos, químicos u otros físicos. Ejemplos de marcadores incluyen radiomarcadores (p. ej., ¹¹¹In, ^{99m}Tc, ¹³¹I, ⁶⁷Ga) y otros agentes de obtención de imágenes

65

aprobados por la FDA. Los marcadores adicionales incluyen ^{32}P , tintes fluorescentes, reactivos densos en electrones, enzimas, biotina, digoxigenina, o haptenos y proteínas u otras entidades que se pueden volver detectables, p. ej., incorporando un radiomarcador en el agente de direccionamiento. Puede emplearse cualquier método conocido en la técnica para conjugar un ácido nucleico o nanotransportador al marcador, p. ej., usando los métodos descritos en Hermanson, *Bioconjugate Techniques* 1996, Academic Press, Inc., San Diego.

Un anticuerpo o agente "marcado" o "etiquetado" es uno que está unido, bien covalentemente, a través de un conector o un enlace químico, o bien no covalentemente, a través de enlaces iónicos, van der Waals, electrostáticos, o de hidrógeno a un marcador de modo que la presencia del anticuerpo o agente puede detectarse detectando la presencia del marcador unido al anticuerpo o agente.

Las técnicas para conjugar agentes detectables y terapéuticos con anticuerpos son bien conocidas (véase, p. ej., Arnon *et al.*, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", en *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy*, Reisfeld *et al.* (eds.), págs. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom *et al.*, "Antibodies For Drug Delivery" in *Controlled Drug Delivery* (2nd Ed.), Robinson *et al.* (eds.), págs. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review" en *Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications*, Pinchera *et al.* (eds.), págs. 475-506 (1985); y Thorpe *et al.*, "The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates", *Immunol. Rev.*, 62:119-58 (1982)).

Las expresiones "específico para" "se une de manera específica", y términos similares se refieren a una molécula (p. ej., anticuerpo o fragmento de anticuerpo) que se une a una diana con al menos 2 veces más afinidad que los compuestos que no son diana, p. ej., al menos cualquiera de una afinidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 20 veces, 25 veces, 50 veces o 100 veces mayor. Por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a un anticuerpo primario normalmente se unirá al anticuerpo primario con al menos una afinidad 2 veces mayor que una diana de anticuerpo no primario (p. ej., un anticuerpo de una especie diferente o de un isotipo diferente, o una diana que no es de anticuerpo). La especificidad se puede determinar utilizando métodos convencionales, p. ej., inmunoensayos ELISA en fase sólida (véase, p.ej, Harlow y Lane, *Using Antibodies, A Laboratory Manual* (1998) for a description of immunoassay formats and conditions that can be used to determine specific immunoreactivity).

El término "se une" con respecto a una diana de anticuerpo (p. ej., antígeno, analito, complejo inmunitario), normalmente indica que un anticuerpo se une a la mayoría de las dianas de anticuerpos en una población pura (asumiendo proporciones molares apropiadas). Por ejemplo, un anticuerpo que se une a una diana de anticuerpo dada normalmente se une a al menos 2/3 de las dianas del anticuerpo en una solución (p. ej., al menos cualquiera de un 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 o 100 %). Un experto reconocerá que surgirá cierta variabilidad dependiendo del método y/o umbral de determinación de la unión.

Una muestra o valor "de control" se refiere a una muestra que sirve como referencia, habitualmente una referencia conocida, para comparación con una muestra de prueba. Por ejemplo, una muestra de prueba se puede tomar a partir de una condición de prueba, p. ej., en presencia de un compuesto de prueba, y en comparación con muestras de condiciones conocidas, p. ej., en ausencia del compuesto de prueba (control negativo), o en presencia de un compuesto conocido (control positivo). Un control también puede representar un valor promedio recogido de un número de pruebas o resultados. Un experto en la materia reconocerá que los controles se pueden diseñar para evaluar cualquier número de parámetros. Por ejemplo, se puede diseñar un control para comparar el beneficio terapéutico basándose en datos farmacológicos (p. ej., semivida) o medidas terapéuticas (p. ej., comparación de beneficio y/o efectos secundarios). Los controles pueden diseñarse para aplicaciones *in vitro*. Un experto en la materia sabrá qué controles son valiosos en una situación dada, y es capaz de analizar los datos basándose en comparaciones con los valores de control. Los controles también son valiosos para determinar la significación de los datos. Por ejemplo, si los valores de un parámetro dado son ampliamente variables en los controles, la variación en las muestras de prueba no se considerará significativa.

Las expresiones "dosis terapéuticamente eficaz", "dosis eficaz", o "cantidad terapéuticamente eficaz" en el presente documento significa una dosis que produce los efectos para los que se administra. La dosis y formulación exactas dependerán del objetivo del tratamiento, y serán discernibles por un experto en la materia utilizando técnicas conocidas (véase, p.ej., Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (vols. 1-3, 1992); Lloyd, *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding* (1999); Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 20^a edición, Gennaro, Editor (2003), y Pickar, *Dosage Calculations* (1999)). Por ejemplo, para un parámetro dado, una cantidad terapéuticamente eficaz mostrará un aumento o disminución del efecto terapéutico de al menos cualquiera del 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 40 %, 50 %, 60 %, 75 %, 80 %, 90 % o al menos del 100 %. La eficacia terapéutica también puede expresarse como aumento o disminución "del número de veces". Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz puede tener al menos cualquiera de 1,2 veces, 1,5 veces, 2 veces, 5 veces o más de efecto en comparación con un control.

La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" o "transportador farmacéuticamente aceptable" está destinado a incluir sales de los compuestos activos que se preparan con ácidos o bases relativamente no tóxicos, dependiendo de los sustituyentes particulares encontrados en los anticuerpos descritos en el presente documento. Ejemplos de sales

de adición de bases farmacéuticamente aceptables incluyen sal de sodio, potasio, calcio, amonio, amino orgánico o de magnesio o una sal similar. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funcionalidades relativamente básicas, pueden obtenerse sales de adición de ácidos poniendo en contacto la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, puro o en un disolvente inerte adecuado. Ejemplos de sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables incluyen las derivadas de ácidos inorgánicos como ácidos clorhídrico, bromhídrico, nítrico, carbónico, monohidrogenocarbónico, fosfórico, monohidrogenofosfórico, dihidrogenofosfórico, sulfúrico, monohidrogenosulfúrico, yodhídrico o fosforoso, y similares, así como las sales derivadas de ácidos orgánicos relativamente no tóxicos como acético, propiónico, isobutírico, maleico, malónico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, láctico, mandélico, ftálico, bencenosulfónico, p-tolilsulfónico, cítrico, tartárico, metanosulfónico y similares. También se incluyen sales de aminoácidos, tales como arginato y similares, y sales de ácidos orgánicos como ácidos glucurónico o galactunónico y similares (véase, p.ej., Berge *et al.*, Journal of Pharmaceutical Science 66:1-19 (1977)). Determinados compuestos específicos de la presente invención contienen funcionalidades tanto básicas como ácidas que permiten que los compuestos se conviertan bien en sales de adición de bases o de ácidos. Otros transportadores farmacéuticamente aceptables conocidos por los expertos en la materia son adecuados para la presente invención.

El término "reducir", "que reduce", o "reducción", cuando se usa en el contexto de la activación de TGF β mediada por $\alpha\text{v}\beta 8$ se refiere a cualquier cambio negativo detectable o disminución en la cantidad de un parámetro que refleja la activación de TGF β , en comparación con un valor patrón obtenido en las mismas condiciones, pero en ausencia de un anticuerpo como se describe en el presente documento (p. ej., anticuerpos anti- $\alpha\text{v}\beta 8$). El nivel de esta disminución después de la exposición a un anticuerpo como se describe en el presente documento (p. ej., antagonistas anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, anticuerpos e inmunocombinados anti- $\alpha\text{v}\beta 8$) es, en algunos aspectos de la divulgación, al menos el 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 %.

El término "competir", como se usa en el presente documento con respecto a un anticuerpo, significa que un primer anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, compite por unirse con un segundo anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, donde la unión del primer anticuerpo con su epítipo afín disminuye de forma detectable en presencia del segundo anticuerpo en comparación con la unión del primer anticuerpo en ausencia del segundo anticuerpo. La alternativa, donde la unión del segundo anticuerpo a su epítipo también disminuye de forma detectable en presencia del primer anticuerpo, puede, pero no tiene por qué ser así. Es decir, un primer anticuerpo puede inhibir la unión de un segundo anticuerpo a su epítipo sin que ese segundo anticuerpo inhiba la unión del primer anticuerpo a su epítipo respectivo. Sin embargo, cuando cada anticuerpo inhibe de forma detectable la unión del otro anticuerpo con su epítipo o ligando afín, ya sea en la misma, mayor o menor medida, se dice que los anticuerpos "compiten de forma cruzada" entre sí para la unión de su(s) epítipo(s) correspondiente(s). La presente invención abarca tanto los anticuerpos competitivos como los competitivos de forma cruzada. Independientemente del mecanismo por el cual se produzca dicha competencia o competencia cruzada (p. ej., impedimento estérico, cambio conformacional, o unión a un epítipo común, o porción del mismo, y similares), el experto apreciaría, basándose en las enseñanzas proporcionadas en el presente documento, que dichos anticuerpos competitivos y/o que competitivos de manera cruzada están abarcados y pueden ser útiles para los métodos divulgados en el presente documento.

Se conocen numerosos tipos de ensayos de unión competitiva, por ejemplo: radioinmunoensayo (RIA, por sus siglas en inglés) directo o indirecto en fase sólida, inmunoensayo enzimático (EIA, por sus siglas en inglés) directo o indirecto en fase sólida, ensayo de competencia en sándwich (véase Stahl *et al.*, Methods in Enzymology 9:242-253 (1983)); EIA con biotina-avidina directo en fase sólida (véase, Kirkland *et al.*, J. Immunol. 137:3614-3619 (1986)); ensayo de marcaje directo en fase sólida, ensayo de tipo sándwich de marcaje directo en fase sólida (véase Harlow y Lane, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press (1988)); RIA de marcaje directo en fase sólida usando marcador 1-125 (véase Morel *et al.*, Molec. Immunol. 25(1):7-15 (1988)); EIA con biotina-avidina directo en fase sólida (Cheung *et al.*, Virology 176:546-552 (1990)); y RIA de marcaje directo (Moldenhauer *et al.*, Scand. J. Immunol. 32:77-82 (1990)). Normalmente, dicho ensayo implica el uso de antígeno purificado unido a una superficie sólida o a células que portan cualquiera de estos, una inmunoglobulina de ensayo sin marcar y una inmunoglobulina de referencia marcada. La inhibición competitiva se mide determinando la cantidad de marcador unido a la superficie sólida o a las células en presencia de la inmunoglobulina de prueba. Habitualmente, la inmunoglobulina de prueba está presente en exceso. Los anticuerpos identificados por ensayo de competencia (anticuerpos competitivos) incluyen anticuerpos que se unen al mismo epítipo que el anticuerpo de referencia y anticuerpos que se unen a un epítipo adyacente suficientemente próximo al epítipo unido por el anticuerpo de referencia para que se produzca un impedimento estérico. Habitualmente, cuando un anticuerpo competitivo está presente en exceso, inhibirá la unión específica de un anticuerpo de referencia a un antígeno común en al menos un 50 o 75 %.

III. Anticuerpos que se unen a la integrina $\beta 8$

Se proporcionan anticuerpos (incluidos fragmentos de anticuerpos) que se unen específicamente a la integrina $\beta 8$ humana, así como su uso en métodos para tratar o prevenir enfermedades para las que la disminución de la activación de TGF β tiene un efecto de mejora. "Integrina $\beta 8$ " se usa indistintamente con $\beta 8$ y beta-8. La secuencia de la proteína integrina $\beta 8$ humana se puede encontrar en el número de registro de Uniprot P26012, mientras que la secuencia de la integrina $\beta 8$ murina tiene el número de registro de Uniprot Q0VBD0. Véase, *también*, Moyle *et al.* Journal of Biological Chemistry 266:19650-19658 (1991); Nishimura *et al.*, J. Biological Chemistry 269:28708-28715 (1994).

En algunas realizaciones, se proporciona un anticuerpo que se une específicamente a la integrina $\beta 8$ humana e inhibe (bloquea parcial o completamente) la unión del péptido asociado a latencia (LAP) a $\alpha \nu \beta 8$. LAP es un ligando de $\alpha \nu \beta 8$. Véase, p. ej., Sheppard, *Cancer and Metastasis Reviews* 24(3):395-402 (2005); Lu *et al.* *J Cell Sci* 115:4641-4648 (2002). Como se muestra en la Figura 2, los anticuerpos descritos en el Ejemplo inhiben la unión de LAP a $\alpha \nu \beta 8$. Los anticuerpos pueden antagonizar la unión de LAP a $\alpha \nu \beta 8$ con una CI_{50} de, por ejemplo, menos que, p. ej., 10, 5, 1, 0,1 nM o menos.

En algunos aspectos de la divulgación, un anticuerpo de la invención se une específicamente a la integrina $\beta 8$ de ratón, así como humana. Cada uno de los anticuerpos ADWA-2, ADWA-8, ADWA-10, ADWA-11, ADWA-13, ADWA-15, ADWA-16, ADWA-25 y ADWA-20 se une a $\beta 8$ tanto humana como de ratón. Una ventaja de tales anticuerpos es que se pueden generar datos clínicos para estos anticuerpos tanto en ratones, así como en seres humanos.

Un aspecto del bloqueo de la unión de LAP a $\alpha \nu \beta 8$ en una célula puede ser que los anticuerpos eviten o reduzcan TGF β activado en la célula. Por lo tanto, en algunos aspectos de la divulgación, los anticuerpos descritos en el presente documento son útiles para disminuir la activación de TGF β en una célula o un animal (p. ej., un ratón, ser humano u otro animal).

En algunos aspectos de la divulgación, los anticuerpos compiten con uno o más anticuerpos seleccionados de ADWA-2, ADWA-8, ADWA-10, ADWA-11, ADWA-13, ADWA-15, ADWA-16, ADWA-25 y ADWA-20. En algunos aspectos de la divulgación, los anticuerpos se unen al mismo epítipo que el unido por ADWA-2, ADWA-8, ADWA-10, ADWA-11, ADWA-13, ADWA-15, ADWA-16, ADWA-25 y ADWA-20. Los anticuerpos monoclonales y quiméricos, y especialmente los anticuerpos humanizados, son de uso particular para usos terapéuticos humanos de los anticuerpos descritos en el presente documento. Por lo tanto, en algunos aspectos de la divulgación, un anticuerpo específico de $\alpha \nu \beta 8$ como se describe en el presente documento comprende las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera de un anticuerpo seleccionado de ADWA-2, ADWA-8, ADWA-10, ADWA-11, ADWA-13, ADWA-15, ADWA-16, ADWA-25 y ADWA-20. Por ejemplo, el anticuerpo puede tener la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera de un anticuerpo seleccionado de ADWA-2, ADWA-8, ADWA-10, ADWA-11, ADWA-13, ADWA-15, ADWA-16, ADWA-25 y ADWA-20 y tiene una región marco conservada heteróloga (p. ej., humana o similar a la humana).

En algunos aspectos de la divulgación, los anticuerpos específicos de $\alpha \nu \beta 8$ como se describen en el presente documento comprenden las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de la secuencia de la región variable de cadena pesada y la secuencia de la región variable de cadena ligera seleccionada de:

- SEQ ID NO:1 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:2 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:3 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:4 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:5 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:6 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:7 y SEQ ID NO:17, respectivamente;
- SEQ ID NO:8 y SEQ ID NO:18, respectivamente;
- SEQ ID NO:9 y SEQ ID NO:19, respectivamente;
- SEQ ID NO:10 y SEQ ID NO:20, respectivamente;
- SEQ ID NO:11 y SEQ ID NO:20, respectivamente;
- SEQ ID NO:12 y SEQ ID NO:20, respectivamente;
- SEQ ID NO:13 y SEQ ID NO:20, respectivamente;
- SEQ ID NO:14 y SEQ ID NO:21, respectivamente; y
- SEQ ID NO:15 y SEQ ID NO:22, respectivamente.

En algunos aspectos de la divulgación, los anticuerpos específicos de $\alpha \nu \beta 8$ como se describen en el presente documento comprenden la secuencia de la región variable de cadena pesada y la secuencia de la región variable de cadena ligera seleccionada de:

- SEQ ID NO:1 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:2 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:3 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:4 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:5 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:6 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:7 y SEQ ID NO:17, respectivamente;
- SEQ ID NO:8 y SEQ ID NO:18, respectivamente;
- SEQ ID NO:9 y SEQ ID NO:19, respectivamente;
- SEQ ID NO:10 y SEQ ID NO:20, respectivamente;

- SEQ ID NO:1 y SEQ ID NO:20, respectivamente;
- SEQ ID NO:12 y SEQ ID NO:20, respectivamente;
- SEQ ID NO:13 y SEQ ID NO:20, respectivamente;
- SEQ ID NO:14 y SEQ ID NO:21, respectivamente; y
- SEQ ID NO:15 y SEQ ID NO:22, respectivamente.

En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo tiene las secuencias de CDR de cadena pesada y las secuencias de CDR de cadena ligera encontradas en la SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 16, respectivamente. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo tiene las secuencias de CDR de cadena pesada y las secuencias de CDR de cadena ligera encontradas en la SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 16, respectivamente. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo tiene las secuencias de CDR de cadena pesada y las secuencias de CDR de cadena ligera encontradas en la SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 17, respectivamente. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo tiene las secuencias de CDR de cadena pesada y las secuencias de CDR de cadena ligera encontradas en la SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NO: 18, respectivamente. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo tiene las secuencias de CDR de cadena pesada y las secuencias de CDR de cadena ligera encontradas en la SEQ ID NO: 9 y SEQ ID NO: 19, respectivamente.

Los anticuerpos monoclonales pueden obtenerse mediante diversas técnicas familiares para los expertos en la materia. Brevemente, las células de bazo de un animal inmunizado con un antígeno deseado se immortalizan, comúnmente mediante fusión con una célula de mieloma (véase, por ejemplo, Kohler y Milstein, Eur. J. Immunol. 6: 511-519 (1976)). Los métodos alternativos de immortalización incluyen transformación con el virus de Epstein Barr, oncogenes o retrovirus, u otros métodos bien conocidos en la técnica. Las colonias que surgen de células immortalizadas sueltas se exploran para determinar la producción de anticuerpos de la especificidad y afinidad por el antígeno deseadas y el rendimiento de los anticuerpos monoclonales producidos por dichas células puede potenciarse mediante diversas técnicas, incluyendo inyección en la cavidad peritoneal de un hospedador vertebrado. Como alternativa, se pueden aislar secuencias de ADN que codifican un anticuerpo monoclonal o un fragmento de unión del mismo mediante la exploración de una biblioteca de ADN de linfocitos B humanos de acuerdo con el protocolo general explicado por Huse *et al.*, Science 246: 1275-1281 (1989).

Los anticuerpos monoclonales pueden recogerse y titularse contra un ligando $\beta 8$ (p. ej., LAP) en un inmunoensayo, por ejemplo, un inmunoensayo en fase sólida con el ligando inmovilizado sobre un soporte sólido. En algunos aspectos de la divulgación, los anticuerpos monoclonales se unirán con una K_d de al menos aproximadamente 0,1 mM, p. ej., al menos aproximadamente 1 μ M, p. ej., al menos aproximadamente 0,1 μ M o mejor, p. ej., 0,01 μ M o menos.

En un aspecto ejemplar de la divulgación, un animal, tal como un conejo o un ratón se inmuniza con un polipéptido $\beta 8$, o una construcción de ácido nucleico que codifica dicho polipéptido. Los anticuerpos producidos como resultado de la inmunización se pueden aislar usando métodos convencionales. En algunos aspectos de la divulgación, el animal es nuligénico de la integrina $\beta 8$ y se inmuniza con un polipéptido de la integrina $\beta 8$ humana o un fragmento del mismo.

Las inmunoglobulinas, incluyendo fragmentos de unión y otros derivados de las mismas, de la presente invención se pueden producir fácilmente mediante una variedad de técnicas de ADN recombinante, incluyendo por expresión en células transfectadas (p. ej., células eucariotas immortalizadas, tal como células de mieloma o hibridoma) o en ratones, ratas, conejos u otros vertebrados capaces de producir anticuerpos mediante métodos bien conocidos. Pueden obtenerse células fuente adecuadas para las secuencias de ADN y células hospedadoras para la expresión y secreción de inmunoglobulinas a partir de varias fuentes, tales como la American Type Culture Collection (Catalogue of Cell Lines and Hybridomas, Quinta edición (1985) Rockville, MD).

En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado, es decir, un anticuerpo que conserva la reactividad de un anticuerpo no humano mientras es menos inmunogénico en seres humanos. Esto puede conseguirse, por ejemplo, conservando las regiones CDR no humanas y reemplazando las partes restantes del anticuerpo con sus homólogas humanas. Véase, p. ej., Morrison *et al.*, PNAS USA, 81:6851-6855 (1984); Morrison y Oi, Adv. Immunol., 44:65-92 (1988); Verhoeyen *et al.*, Science, 239:1534-1536 (1988); Padlan, Molec. Immun., 28:489-498 (1991); Padlan, Molec. Immun., 31(3):169-217 (1994). Las técnicas para humanizar anticuerpos son bien conocidas en la técnica y se describen en, p. ej., las Patentes de EE.UU. N.º 4.816.567; 5.530.101; 5.859.205; 5.585.089; 5.693.761; 5.693.762; 5.777.085; 6.180.370; 6.210.671; y 6.329.511; WO 87/02671; la Solicitud de Patente EP 0173494; Jones *et al.* (1986) Nature 321:522; y Verhoeyen *et al.* (1988) Science 239:1534. Los anticuerpos humanizados se describen adicionalmente en, p. ej., Winter y Milstein (1991) Nature 349:293. Por ejemplo, los polinucleótidos que comprenden una primera secuencia que codifica regiones marco conservadas de inmunoglobulina humanizada y un segundo conjunto de secuencias que codifica las regiones determinantes de la complementariedad de la inmunoglobulina deseada se pueden producir de forma sintética o combinando los segmentos adecuados de ADNc y ADN genómico. Se pueden aislar secuencias de ADN de región constante humana de acuerdo con procedimientos bien conocido a partir de una variedad de células humanas. Las CDR para producir las inmunoglobulinas de la presente divulgación derivarán de manera similar de anticuerpos monoclonales capaces de unirse específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ (p. ej., ADWA-2, ADWA-8, ADWA-10, ADWA-11, ADWA-13, ADWA-15, ADWA-16, ADWA-25 y ADWA-20 o anticuerpos que compiten con ADWA-2, ADWA-8, ADWA-10, ADWA-11, ADWA-13, ADWA-15, ADWA-16, ADWA-25 y ADWA-20 para la unión específica a la integrina $\alpha\beta 8$).

En algunos casos, la transferencia de una CDR a un marco humano conduce a una pérdida de especificidad por el anticuerpo humanizado. En estos casos, la mutación inversa se puede introducir en las regiones marco conservadas de la porción humana del anticuerpo. Los métodos para realizar mutaciones inversas son bien conocidos en la técnica y se describen en, p. ej., Co *et al.*, PNAS USA 88:2269-2273 (1991) and WO 90/07861.

En algunos aspectos de la divulgación, los anticuerpos son fragmentos de anticuerpos como Fab, F(ab')₂, Fv o scFv. Los fragmentos de anticuerpos se pueden generar usando cualquier medio conocido en la técnica, incluyendo, digestión química (p. ej., papaína o pepsina) y métodos recombinantes. Los métodos para aislar y preparar ácidos nucleicos recombinantes son conocidos por los expertos en la materia (véase, Sambrook *et al.*, Molecular Cloning. A Laboratory Manual (2^a ed. 1989); Ausubel *et al.*, Current Protocols in Molecular Biology (1995)). Los anticuerpos se pueden expresar en una variedad de células hospedadoras, incluyendo *E. coli*, otros hospedadores bacterianos, levaduras y diversas células eucariotas superiores tales como las líneas celulares COS, CHO y HeLa y líneas celulares de mieloma.

Pueden usarse ensayos de unión competitiva para identificar anticuerpos que compiten con un anticuerpo descrito en el presente documento por la unión específica a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$. Puede usarse cualquiera de varios ensayos de unión competitiva conocidos en la técnica para medir la competencia entre dos anticuerpos para el mismo antígeno. Brevemente, se prueba la capacidad de diferentes anticuerpos para inhibir la unión de otro anticuerpo. Por ejemplo, los anticuerpos se pueden diferenciar por el epítipo al que se unen usando un ensayo ELISA tipo sándwich. Esto se lleva a cabo utilizando un anticuerpo de captura para recubrir la superficie de un pocillo. A continuación, se añade una concentración subsaturante de antígeno marcado a la superficie de captura. Esta proteína se unirá al anticuerpo a través de una interacción anticuerpo:epítipo específica. Después de lavar un segundo anticuerpo, que se ha enlazado covalentemente a un resto detectable (p. ej., HRP, siendo el anticuerpo marcado definido como el anticuerpo de detección) se añade a ELISA. Si este anticuerpo reconoce el mismo epítipo que el anticuerpo de captura, no podrá unirse a la proteína diana ya que ese epítipo particular ya no estará disponible para unirse. Sin embargo, si este segundo anticuerpo reconoce un epítipo diferente en la proteína diana, será capaz de unirse y esta unión puede detectarse cuantificando el nivel de actividad (y, por lo tanto, el anticuerpo unido) usando un sustrato relevante. El fondo se define mediante el uso de un solo anticuerpo como anticuerpo tanto de captura como de detección, mientras que la señal máxima se puede establecer capturando con un anticuerpo específico de antígeno y detectando con un anticuerpo la etiqueta en el antígeno. Al usar las señales de fondo y máxima como referencias, los anticuerpos se pueden evaluar por pares para determinar la especificidad del epítipo.

Se considera que un primer anticuerpo inhibe competitivamente la unión de un segundo anticuerpo, si la unión del segundo anticuerpo al antígeno se reduce en al menos un 30 %, habitualmente en al menos aproximadamente un 40 %, 50 %, 60% o 75%, y con frecuencia en al menos alrededor de un 90 %, en presencia del primer anticuerpo usando cualquiera de los ensayos descritos anteriormente.

IV. Tratamiento terapéutico

Como se analiza anteriormente, los anticuerpos (incluidos los fragmentos de anticuerpos) descritos en el presente documento se pueden usar para reducir la activación de TGF β en una célula o un animal. En consecuencia, los anticuerpos se pueden administrar a un animal (p. ej., un animal humano o no humano) que lo necesite, reduciendo así la activación de TGF β en el animal. Las enfermedades para las que la reducción de TGF β al mejoran incluyen, pero sin limitación, asma, esclerosis múltiple, lesión pulmonar aguda, artritis reumatoide, psoriasis y enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Por ejemplo, los inventores han descubierto que los ratones nuligénicos para $\beta 8$ han mejorado los síntomas en modelos de ratón de asma, esclerosis múltiple y lesión pulmonar aguda en comparación con los modelos de ratones que expresan la integrina $\beta 8$ natural.

En consecuencia, se proporcionan composiciones, incluyendo composiciones farmacéuticas, que comprenden uno o más anticuerpos descritos en el presente documento. Por ejemplo, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo ADWA-2, ADWA-8, ADWA-10, ADWA-11, ADWA-13, ADWA-15, ADWA-16, ADWA-25 o ADWA-20 humanizado.

En algunos aspectos de la divulgación, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que comprende las secuencias CDR de cadena pesada (CDR1, CDR2 y CDR3, y las secuencias CDR de cadena ligera (CDR1, CDR2 y CDR3) seleccionadas del grupo que consiste en:

- SEQ ID NO:1 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:2 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:3 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:4 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:5 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:6 y SEQ ID NO:16, respectivamente;
- SEQ ID NO:7 y SEQ ID NO:17, respectivamente;
- SEQ ID NO:8 y SEQ ID NO:18, respectivamente;

- SEQ ID NO:9 y SEQ ID NO:19, respectivamente;
- SEQ ID NO:10 y SEQ ID NO:20, respectivamente;
- SEQ ID NO:11 y SEQ ID NO:20, respectivamente;
- SEQ ID NO:12 y SEQ ID NO:20, respectivamente;
- SEQ ID NO:13 y SEQ ID NO:20, respectivamente;
- SEQ ID NO:14 y SEQ ID NO:21, respectivamente; y
- SEQ ID NO:15 y SEQ ID NO:22, respectivamente.

En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo tiene las secuencias de CDR de cadena pesada y las secuencias de CDR de cadena ligera encontradas en la SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 16, respectivamente. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo tiene las secuencias de CDR de cadena pesada y las secuencias de CDR de cadena ligera encontradas en la SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 16, respectivamente. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo tiene las secuencias de CDR de cadena pesada y las secuencias de CDR de cadena ligera encontradas en la SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 17, respectivamente. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo tiene las secuencias de CDR de cadena pesada y las secuencias de CDR de cadena ligera encontradas en la SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NO: 18, respectivamente. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo tiene las secuencias de CDR de cadena pesada y las secuencias de CDR de cadena ligera encontradas en la SEQ ID NO: 9 y SEQ ID NO: 19, respectivamente.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden comprender un transportador farmacéuticamente aceptable. Los transportadores farmacéuticamente aceptables se determinan en parte por la composición particular que se va a administrar, así como por el método particular usado para administrar la composición. En consecuencia, existe una amplia variedad de formulaciones de composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas (véase, p. ej., Remington's Pharmaceutical Sciences, 17^a ed., 1989).

Las composiciones de la invención, solas o en combinación con otros componentes, se pueden preparar en formulaciones de aerosol (es decir, se pueden "nebulizar") para administrar por inhalación. Las formulaciones de aerosol pueden colocarse en propulsores aceptables a presión, tal como diclorodifluorometano, propano, nitrógeno y similares.

Las formulaciones adecuadas para la administración incluyen soluciones acuosas y no acuosas, soluciones isotónicas estériles, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen la formulación isotónica, y las suspensiones estériles acuosas y no acuosas que puede incluir agentes de suspensión, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizantes y conservantes. En la práctica de esta invención, se pueden administrar composiciones, por ejemplo, por vía oral, por vía nasal, por vía tópica, por vía intravenosa, por vía intraperitoneal o por vía intratecal. Las formulaciones de compuestos se pueden presentar en envases precintados de dosis unitaria o multidosis, tales como ampollas y viales. Las soluciones y suspensiones pueden prepararse a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito anteriormente. Los moduladores también se pueden administrar como parte de un alimento o fármaco preparado.

Las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden comprender: (a) soluciones líquidas, tal como una cantidad eficaz del ácido nucleico empaquetado suspendido en diluyentes, tal como agua, solución salina o PEG 400; (b) cápsulas, sobrecitos o comprimidos, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del principio activo, como líquidos, sólidos, gránulos o gelatina; (c) suspensiones en un líquido apropiado; y (d) emulsiones adecuadas. Las formas de comprimido pueden incluir uno o más de lactosa, sacarosa, manitol, sorbitol, fosfatos de calcio, almidón de maíz, almidón de patata, celulosa microcristalina, gelatina, dióxido de silicio coloidal, talco, estearato de magnesio, ácido esteárico, y otros excipientes, colorantes, cargas, aglutinantes, diluyentes, agentes tamponantes, agentes humectantes, conservantes, agentes aromatizantes, tintes, agentes disgregantes y transportadores farmacéuticamente compatibles. Las formas de pastillas para chupar pueden comprender el principio activo en un sabor, p. ej., sacarosa, así como pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte, tales como emulsiones de gelatina y glicerina o sacarosa y goma arábiga, geles, y similares que contienen, además del principio activo, transportadores conocidos en la técnica.

La dosis administrada a un paciente, en el contexto de la presente invención, debe ser suficiente para efectuar una respuesta beneficiosa en el sujeto en el tiempo. El nivel de dosis óptimo para cualquier paciente dependerá de una variedad de factores, incluida la eficacia del modulador específico empleado, la edad, peso corporal, actividad física y dieta del paciente, sobre una posible combinación con otros fármacos y de la gravedad de la EP. El tamaño de la dosis se determinará también según la existencia, naturaleza y grado de cualquier efecto adverso que acompañe a la administración de un compuesto particular en un sujeto particular.

Para determinar la cantidad eficaz de antagonistas de la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ que se van a administrar, un médico puede evaluar los niveles en plasma circulantes del antagonista y la toxicidad del antagonista. En general, la dosis equivalente de un antagonista es de aproximadamente 1 ng/kg a 10 mg/kg para un sujeto típico.

Para la administración, los antagonistas de la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ se pueden administrar a una velocidad determinada por la DL_{50} del antagonista, y los efectos secundarios del antagonista a diversas concentraciones, aplicado a la masa y la

salud general del sujeto. La administración se puede realizar mediante dosis únicas o divididas.

Las composiciones se pueden administrar de forma regular (p. ej., diariamente) durante un período de tiempo (p. ej., 2, 3, 4, 5, 6, días o 1-3 semanas o más). Las composiciones se pueden administrar directamente al sujeto mamífero para reducir la activación de TGF β usando cualquier ruta conocida en la técnica, incluyendo, p. ej., por inyección (p. ej., intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular o intradérmica), inhalación, aplicación transdérmica, administración rectal o administración oral.

Ejemplos

Ejemplo 1

Se identificaron nueve anticuerpos (denominados ADWA-2, ADWA-8, ADWA-10, ADWA-11, ADWA-13, ADWA-15, ADWA-16, ADWA-20 y ADWA-25) que bloquean la adhesión de LAP a TGF β 1, reaccionan de forma cruzada con β 8 murina (como se determina con citometría de flujo en astrocitos murinos) y bloquean la activación de TGF β (como se determina con diluciones en serie de β 83.7.12 - en un bioensayo de cocultivo con células epiteliales de pulmón de visón). El anticuerpo más potente, ADWA11, parece tener una CI50 para inhibir la activación de TGF β de menos de 5 nM (basado en una inhibición casi completa por una concentración de anticuerpo de 1 microgramo/ml (~ 6,3 nM)).

Los anticuerpos se prepararon inmunizando ratones raros con el gen de β 8 desactivado que sobreviven hasta la edad adulta joven con α v β 8 humana purificada. Los gráficos de citometría de flujo son con astrocitos murinos primarios y muestran que ADWA-2, ADWA-8, ADWA-10, ADWA-11, ADWA-13, ADWA-15, ADWA-16, ADWA-20 y ADWA-25 reconocen la integrina de ratón, mientras que otros varios no lo hacen. Véase, La Figura 1. Los mismos anticuerpos bloquean la adhesión de las células SW480 transfectadas con β 8 a LAP y la activación de TGF β por las mismas células. Véanse, las Figuras 2 y 3, respectivamente. Debido a que las células utilizadas también expresaron la integrina α v β 6, los resultados de estos ensayos también incluyen el anticuerpo de bloqueo de β 6, 3G9.

Se llevaron a cabo estudios de activación de TGF β adicionales con anticuerpos individuales para determinar su capacidad para bloquear la activación de células SNB-19 transfectadas con β 8 a diversas concentraciones. Los resultados se muestran en las Figuras 4-8 para ADWA-2, ADWA-11, ADWA-13, ADWA-15 y ADWA-16. También se llevaron a cabo ensayos de bloqueo de LAP adicionales en células SNB-19 transfectadas con β 8. Los resultados se muestran en las Figura 9-13.

Los resultados demuestran que ADWA-2, ADWA-16, ADWA-15, ADWA-11, ADWA-13 y ADWA-10 son más eficaces para bloquear la adhesión de LAP e inhibir la activación de TGF β .

Ejemplo 2

Para caracterizar aún más las secuencias de los anticuerpos ADWA-2, ADWA-8, ADWA-10, ADWA-11, ADWA-13, ADWA-15, ADWA-16, ADWA-20 y ADWA-25, se recogió el ARN total de la línea celular de hibridoma que expresaba cada anticuerpo. El ARN se aisló usando el kit Rneasy® y QIAshredder de Qiagen®. La PCR con transcriptasa inversa se llevó a cabo utilizando oligo dT y oligo Clontech® SMART™ IIa. La PCR se llevó a cabo utilizando oligonucleótidos en sentido SMART e IgG1 u oligos de dominio constante kappa de ratón.

Cada uno de los productos de PCR de 500 pb (de cada clon de anticuerpo) se separó usando electroforesis en gel y se clonó en el kit de clonación Zero Blunt® TOPO® de Invitrogen™ y se transformó en células. Para cada clon de hibridoma de anticuerpo, se seleccionaron 16 colonias (288 colonias en total).

El ADN clonado se secuenció mediante amplificación por círculo rodante (RCA, por sus siglas en inglés) y se analizó con AlignX® y TIBCO® Spotfire® de Invitrogen™. Las secuencias de la región V y CDR se analizaron inicialmente para determinar la variabilidad dentro de cada clon de anticuerpo, y después se compararon entre los clones.

Casi todas las secuencias de VH de ADWA16 y ADWA2 eran idénticas (SEQ ID NO: 1), encontrándose 2 variantes en las 16 muestras de ADWA2 (SEQ ID NO: 2 y 3). La secuencia primaria de ADWA13 se muestra en la SEQ ID NO: 4, con 2 variantes mostradas en las SEQ ID NO: 5 y 6. Las secuencias de VH de estos tres anticuerpos fueron bastante similares, con 2 cambios de aminoácidos en la CDR2 (posiciones 60 y 66) y 3 en las regiones FW (posiciones 19, 45 y 78).

Las secuencias de VH para ADWA10, ADWA11, ADWA15, ADWA20 y ADWA25 eran idénticas dentro de cada clon, pero distintas de otros clones. Las secuencias de VH se muestran en las SEQ ID NO: 7 (ADWA15), 8 (ADWA11), 9 (ADWA10), 14 (ADWA20) y 15 (ADWA25). Se encontraron tres variantes de secuencia de VH entre las 16 muestras de ADWA8 (SEQ ID NO: 11-13), con la secuencia primaria mostrada como la SEQ ID NO: 10.

En cuanto a las cadenas ligeras, se encontró que ADWA2, ADWA13 y ADWA16 compartían la misma secuencia de Vkappa (SEQ ID NO: 16). Las secuencias de Vkappa para ADWA15, ADWA11 y ADWA10 se muestran en las SEQ ID NO: 17, 18 y 19, respectivamente. Las secuencias de Vkappa para ADWA8, ADWA20 y ADWA25 se muestran en

las SEQ ID NO: 20, 21 y 22, respectivamente.

Las secuencias de anticuerpos se confirmaron y se muestran en la Tabla 1 a continuación. La Tabla 1 muestra las secuencias para la región variable de cadena pesada (V_H), región variable de cadena ligera (V_L), CDR de cadena pesada (HCDR), CDR de cadena ligera (LCDR), nucleótidos que codifican V_H y nucleótidos que codifican V_L. Las CDR se muestran de acuerdo con las designaciones de Chothia (subrayado) y Kabat (negrita).

Tabla 1

SEQ ID NO:	Descripción	Secuencia
		SECUENCIAS de V_H- AMINO ÁCIDOS
1	ADWA2 ADWA16	QVQLQQSGAELAKPGASMKMSCKASGYTFSSYWIYWVKQRPQGQLEWIGYIN <u>PTTGYTEYNQKFRD</u> KATLTADKSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAT <u>EGGNWE</u> <u>DYWGQGTTTLTVSS</u>
2	ADWA2-1	QVQLQQSGAELAKPGASMKMSCKASGYTFSSYWIYWVKQRPQGQLEWIGYIN <u>PTTGYTEYNQKFRD</u> KVTLTADKSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAT <u>EGGNWE</u> <u>DYWGQGTTTLTVSS</u>
3	ADWA2-2	QVQLQQSGAELTKPGASMKMSCKASGYTFSSYWIYWVKQRPQGQLEWIGYIN <u>PTTGYTEYNQKFRD</u> KVTLTADKSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAT <u>EGGNWE</u> <u>DYWGQGTTTLTVSS</u>
4	ADWA13	QVQLQQSGAELAKPGASVKMSCKASGYTFSSYWIYWVKQRPQGVLEWIGYIN <u>PTTGYTDYNQKFKD</u> KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAT <u>EGGNWE</u> <u>DYWGQGTTTLTVSS</u>
5	ADWA13-1	QVQLQQSGAELAKPGASVKMSCKASGYTFSSYWIYWVKQRPQGVLEWIGYIN <u>PTTGYTDYNQKFKD</u> KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSTVYYCAT <u>EGGNWE</u> <u>DYWGQGTTTLTVSS</u>
6	ADWA13-2	QVQLQQSGAELTKPGASVKMSCKASGYTFSSYWIYWVKQRPQGVLEWIGYIN <u>PTTGYTDYNQKFKD</u> KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSTVYYCAT <u>EGGNWE</u> <u>DYWGQGTTTLTVSS</u>
7	ADWA15	QVQLQQPGSVLVRPGASVKLSCKASGYTFTSSWMHWAKQRPQGQLEWIGEIH <u>PNSGNSIYNEKFKD</u> KATLTVDTSSSTAYVDLSSLTSEDSAVYYCAR <u>WGDFDY</u> WGQGTTTLTVSS
8	ADWA11	EVQLQQSGAELVRPGAFVKLSCKASGFNIKDYMNWVLQRPEQGLEWIGWID <u>PDNGNTIYDPKFKQ</u> KASITADTSSNTAYLQLSSLTSEDSTAVYYCAR <u>RLLMDY</u> WGQGTSTVTVSS
9	ADWA10	EVLLQQSGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTNYNMDWVKQSHGKSLEWIGDIN <u>PNSGGSVYNQKFKG</u> KATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSTAVYYCAR <u>WAYYGE</u> <u>RFHYFDY</u> WGQGTTTLTVSS
10	ADWA8	QVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGQLEWIGNIY <u>PGSGRTNYDEKFKS</u> KATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTR <u>PLQYRY</u> <u>DVYPMDY</u> WGQGTSTVTVSS
11	ADWA8-1	QVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGQLEWIGNIY <u>PGSGRTNYDEKFRS</u> KATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTR <u>PLQYRY</u> <u>DVYPMDY</u> WGQGTSTVTVSS
12	ADWA8-2	QVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQKPGQGLEWIGNIY <u>PGSGRTNYDEKFKS</u> KATLTVDTSSSTAYMQLSLTSEDSAVYYCTR <u>PLQYRY</u> <u>DVYPMDY</u> WGQGTSTVTVSS

(continuación)

SEQ ID NO:	Descripción	Secuencia
13	ADWA8-3	<u>QVQLQQPGSELVVRPGASMKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIY</u> <u>PGSGRTNYDEKFKS</u> KATLTVDTSSTAYMQLTSLTSEDSAVYYCTR <u>PLQYRY</u> <u>DVYPMDY</u> WGQGTSTVTVSS
14	ADWA20	DVQLQESGPGVLVKPSQSLSLTCTVTGYSIT <u>SDFAWS</u> WIRQFPGNKLEWMGYI <u>SYSGSTGYNPSLKS</u> RISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCTR <u>RGLYHW</u> <u>GFPY</u> WGQGTSLVTVSA
15	ADWA25	<u>EVQLVESGGDLVKPGGSLKLSCAASGFTFS</u> <u>SYGMS</u> WVRQTPDKRLEWVATIS <u>GGGSYTYYPDSVKGR</u> FTISRHNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMYYCAS <u>DPYYYG</u> <u>RRDLAWIAY</u> WGQGTSLVTVSA
		SECUENCIAS de VL- AMINO ÁCIDOS
16	ADWA2 ADWA13 ADWA16	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCR <u>RASQDISNYLN</u> WYQQKPDGTVKLLIY <u>YTS</u> <u>RLYS</u> GVPSRFRSGSGSGTDYSLTISNLEPKDIATYYC <u>QQFSELPRT</u> FGGGTKL EIK
17	ADWA15	DVQMTQTSSLSASLGDRVTISCR <u>RASQDISNYLN</u> WYQQKPDGTVKLLIY <u>YTS</u> <u>RLHS</u> GVPSRFRSGSGSGTDFSLTISNLEPEDIATYYC <u>QQYNKVPLT</u> FGGGTKL ELK
18	ADWA11	DIVMTQAAPSPVPTPGESVSISSCR <u>RSTKSLHFNGNTYLF</u> WFLQRPQGSPQRL IY <u>YMSNLAS</u> GVPPDRFSGRSGTDFTLRISRVEAEDVGVIYCM <u>QMSLEYPT</u> FG TGTKLEIK
19	ADWA10	QIVLSQSPAILLSASPGEKVTMTCR <u>RASSSVSYMH</u> WYQQKSGSSPKPIY <u>ATSN</u> <u>LAS</u> GVPPARFRSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYC <u>QQWSSNPPT</u> FGGGTKLE IK
20	ADWA8	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCR <u>RASENIDSYLA</u> WYQQKQKGKSPQLLVY <u>AAT</u> <u>LLPD</u> GVPSRFRSGSGSGTQYSLKINSLSQEDVARYYC <u>QHYYNTPWT</u> FGGGTKL EIK
21	ADWA20	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCR <u>KASQDVSSAVA</u> WYQQKPGQSPKLLIY <u>WAS</u> <u>TRHT</u> GVPPDRFTGSGSGTDYTLTVSNVQAEDLALYYC <u>QQHYITPYT</u> FGGGTKL EIK
22	ADWA25	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCR <u>KASQNVGTNVA</u> WYQQKPGQSPKALIY <u>SAS</u> <u>YRYS</u> GVPPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFC <u>QQYNSYPYT</u> FGGGTKL EIK
		SECUENCIAS CDR de VH - AMINOÁCIDOS
23	ADWA2 ADWA16 ADWA2-1 ADWA2-2 ADWA13 ADWA13-1 ADWA13-2 HCDR1	GYTFSSYWIY (SUBRAYADO =SEQ ID NO: 88; NEGRITA = SEQ ID NO: 89)
24	ADWA2 ADWA16 ADWA2-1 ADWA2-2 HCDR2	<u>YINPTTGYTEYNQKFRD</u> (SUBRAYADO = SEQ ID NO: 90)

(continuación)

SEQ ID NO:	Descripción	Secuencia
25	ADWA2 ADWA16 ADWA2-1 ADWA2-2 ADWA13 ADWA13-1 ADWA13-2 HCDR3	<u>EGGNWEDY</u>
26	ADWA13 ADWA13-1 ADWA13-2 HCDR2	<u>YINPTTGYTDYNQKFKD</u> (SUBRAYADO = SEQ ID NO: 90)
27	ADWA15 HCDR1	<u>GYTFTSSWMH</u> (SUBRAYADO =SEQ ID NO: 91; NEGRITA = SEQ ID NO: 92)
28	ADWA15 HCDR2	<u>EIHPNSGNSIYNEKFKD</u> (SUBRAYADO =SEQ ID NO: 93)
29	ADWA15 HCDR3	<u>WGDFDY</u>
30	ADWA11 HCDR1	<u>GFNIKDYMinnesota</u> (SUBRAYADO =SEQ ID NO: 94; NEGRITA = SEQ ID NO: 95)
31	ADWA11 HCDR2	<u>WIDPDNGNTIYDPKFQG</u> (SUBRAYADO = SEQ ID NO: 96)
32	ADWA11 HCDR3	<u>RLLMDY</u>
33	ADWA10 HCDR1	<u>GYTFTNYNMD</u> (SUBRAYADO = SEQ ID NO: 97; NEGRITA = SEQ ID NO: 98)
34	ADWA10 HCDR2	DINPNSGGSVYNQKFKG (SUBRAYADO = SEQ ID NO: 99)
35	ADWA10 HCDR3	<u>WAYYGERFHYFDY</u>
36	ADWA8 ADWA8-1 ADWA8-2 ADWA8-3 HCDR1	<u>GYTFTSYWMH</u> (SUBRAYADO =SEQ ID NO: 100; NEGRITA = SEQ ID NO: 101)
37	ADWA8 ADWA8-2 ADWA8-3 HCDR2	<u>NIYPGSGRTNYDEKFKS</u> (SUBRAYADO = SEQ ID NO: 102)
38	ADWA8 ADWA8-1 ADWA8-2 ADWA8-3 HCDR3	<u>PLOQRYDVYPMDY</u>

(continuación)

SEQ ID NO:	Descripción	Secuencia
39	ADWA8-1 HCDR2	<u>NIYPGSGRTNYDEKFRS</u> (SUBRAYADO = SEQ ID NO: 102)
40	ADWA20 HCDR1	<u>GYSITSDFAWS</u> (SUBRAYADO =SEQ ID NO: 103; NEGRITA = SEQ ID NO: 104)
41	ADWA20 HCDR2	<u>YISYSGSTGYNPSLKS</u> (SUBRAYADO = SEQ ID NO: 105)
42	ADWA20 HCDR3	<u>RGLYHWGFPY</u>
43	ADWA25 HCDR1	<u>GFTFSSYGMS</u> (SUBRAYADO =SEQ ID NO: 106; NEGRITA = SEQ ID NO: 107)
44	ADWA25 HCDR2	<u>TISGGGSYTYYPDSVKG</u>
45	ADWA25 HCDR3	<u>DPYYYGRRDLAWIAY</u>
		SECUENCIAS CDR de VL - AMINOÁCIDOS
46	ADWA2 ADWA13 ADWA16 ADWA15 LCDR1	<u>RASQDISNYLN</u>
47	ADWA2 ADWA13 ADWA16 LCDR2	<u>YTSRLYS</u>
48	ADWA2 ADWA13 ADWA16 LCDR3	<u>QQFSELPRT</u>
49	ADWA15 LCDR2	<u>YTSRLHS</u>
50	ADWA15 LCDR3	<u>QQYNKVPLT</u>
51	ADWA11 LCDR1	<u>RSTKSLHFNGNTYLF</u>
52	ADWA11 LCDR2	<u>YMSNLAS</u>
53	ADWA11 LCDR3	<u>MQSLEYPFT</u>
54	ADWA10 LCDR1	<u>RASSSVSYM</u>
55	ADWA10 LCDR2	<u>ATSNLAS</u>

(continuación)

SEQ ID NO:	Descripción	Secuencia
56	ADWA10 LCDR3	<u>QQWSSNPPT</u>
57	ADWA8 LCDR1	<u>RASENIDSYLA</u>
58	ADWA8 LCDR2	<u>AATLLPD</u>
59	ADWA8 LCDR3	<u>QHYYNTPWT</u>
60	ADWA20 LCDR1	<u>KASQDVSSAVA</u>
61	ADWA20 LCDR2	<u>WASTRHT</u>
62	ADWA20 LCDR3	<u>QQHYITPYT</u>
63	ADWA25 LCDR1	<u>KASQNVGTNVA</u>
64	ADWA25 LCDR2	<u>SASYRYS</u>
65	ADWA25 LCDR3	<u>QQYNSYPYT</u>
		SECUENCIAS de V_H - ÁCIDOS NUCLEICOS
66	ADWA16-1	CAGGTCCAGCTTCAGCAGTCTGGGGCTGAACTGGCAAAACCTGGGGCCTCAA TGAAGATGTCTTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTTTCTAGCTACTGGATATA TTGGGTAAAACAGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGATACATTAAT CCTACCACTGGTTATACTGAGTACAATCAGAAGTTCAGGGACAAGGCCACAT TGACTGCAGACAAATCCTCCAACACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGAC ATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAACAGAGGGAGGTAATTGGGAG GACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA
67	ADWA2-1	CAGGTCCAGCTTCAGCAGTCTGGGGCTGAACTGGCAAAACCTGGGGCCTCAA TGAAGATGTCTTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTTTCTAGCTACTGGATATA TTGGGTAAAACAGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGATACATTAAT CCTACCACTGGTTATACTGAGTACAATCAGAAGTTCAGGGACAAGGTCACAT TGACTGCAGACAAATCCTCCAACACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGAC ATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAACAGAGGGAGGTAATTGGGAG GACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA
68	ADWA2-2	CAGGTCCAGCTTCAGCAGTCTGGGGCTGAACTGACAAAACCTGGGGCCTCAA TGAAGATGTCTTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTTTCTAGCTACTGGATATA TTGGGTAAAACAGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGATACATTAAT CCTACCACTGGTTATACTGAGTACAATCAGAAGTTCAGGGACAAGGCCACAT TGACTGCAGACAAATCCTCCAACACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGAC ATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAACAGAGGGAGGTAATTGGGAG GACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

(continuación)

SEQ ID NO:	Descripción	Secuencia
69	ADWA13	CAGGTCCAGCTTCAGCAGTCTGGGGCTGAACTGGCAAAACCTGGGGCCTCAG TGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTTTCTAGCTACTGGATATA TTGGGTAAAACAGAGGCCTGGACAGGTTCTGGAATGGATTGGATACATTAAT CCTACCACTGGTTACACTGACTACAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACAT TGACTGCAGACAAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGAC ATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAACAGAGGGAGGTAATTGGGAG GACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA
70	ADWA13-1	CAGGTCCAGCTTCAGCAGTCTGGGGCTGAACTGGCAAAACCTGGGGCCTCAG TGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTTTCTAGCTACTGGATATA TTGGGTAAAACAGAGGCCTGGACAGGTTCTGGAATGGATTGGATACATTAAT CCTACCACTGGTTACACTGACTACAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACAT TGACTGCAGACAAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGAC ATCTGAGGACTCTACAGTCTATTACTGTGCAACAGAGGGAGGTAATTGGGAG GACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA
71	ADWA13-2	CAGGTCCAGCTTCAGCAGTCTGGGGCTGAACTGACAAAACCTGGGGCCTCAG TGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTTTCTAGCTACTGGATATA TTGGGTAAAACAGAGGCCTGGACAGGTTCTGGAATGGATTGGATACATTAAT CCTACCACTGGTTACACTGACTACAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACAT TGACTGCAGACAAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGAC ATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAACAGAGGGAGGTAATTGGGAG GACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA
72	ADWA15	CAGGTCCAAGTGCAGCAGCCTGGGTCTGTGCTGGTGAGGCCTGGAGCTTCAG TGAAGTTGTCTCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGCTCCTGGATGCA CTGGGGCAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCCTTGAGTGGATTGGAGAGATTTCAT CCTAATAGTGGTAATAGTATCTACAATGAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACAC TGACTGTAGACACATCCTCCAGCACAGCCTACGTGGATCTCAGCAGCCTGAC ATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGATGGGGGGATTTTGACTAC TGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA
73	ADWA11	GAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTTGTGAGGCCTGGGGCCTTTG TCAAGTTGTCTCTGCAAGGCTTCTGGCTTCAACATTAAGACTACTATATGAA TTGGGTGTTGCAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGATTGGATGAT CCTGACAATGGTAATACTATATATGACCCGAAGTTCCAGGGCAAGGCCAGTA TAACAGCAGACACATCCTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCAGCAGCCTGAC ATCTGAGGACACTGCCGTCTATTACTGTGCTAGAAGACTACTTATGGACTAC TGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
74	ADWA10	GAGGTCTCTGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAG TGAAGATACCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACCTACAACATGGA CTGGGTGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATATTAAT CCTAACAGTGGTGGTTCTGTCTACAACCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACAT TGACTGTAGACAAGTCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCCGCAGCCTGAC ATCTGAGGACACTGCAGTCTATTACTGTGCAAGATGGGGCTACTATGGTGAA AGGTTTCACTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCT CA
75	ADWA8	CAGGTCCAAGTGCAGCAACCTGGGTCTGAGCTGGTGAGGCCTGGAGCTTCAG TGAAGCTGTCTCTGCAAGGCTTCAGGCTACACATTCACCAGCTACTGGATGCA CTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCCTTGAGTGGATTGGAAATATTTAT CCTGGTAGTGGTAGAACTAACTACGACGAGAAGTTCAAGAGCAAGGCCACAC TGACTGTAGACACATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCTGAC ATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGACCGCTCCAGTATAGGTAC GACGTCTATCCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCT CA

(continuación)

SEQ ID NO:	Descripción	Secuencia
76	ADWA8-1	CAGGTCCAACCTGCAGCAACCTGGGTCTGAGCTGGTGAGGCCTGGAGCTTCAGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCTTCAGGCTACACATTACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATTGGAAATATTTATCCTGGTAGTGGTAGAACTAACTACGACGAGAAGTTTCAGGAGCAAGGCCACACTGACTGTAGACACATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGACCGCTCCAGTATAGGTACGACGTCTATCCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
77	ADWA8-2	CAGGTCCAACCTGCAGCAACCTGGGTCTGAGCTGGTGAGGCCTGGAGCTTCAATGAAGCTGTCCTGCAAGGCTTCAGGCTACACATTACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATTGGAAATATTTATCCTGGTAGTGGTAGAACTAACTACGACGAGAAGTTCAAGAGCAAGGCCACACTGACTGTAGACACATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTCACCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGACCGCTCCAGTATAGGTACGACGTCTATCCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
78	ADWA8-3	CAGGTCCAACCTGCAGCAACCTGGGTCTGAGCTGGTGAGGCCTGGAGCTTCAGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCTTCAGGCTACACATTACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAAGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATTGGAAATATTTATCCTGGTAGTGGTAGAACTAACTACGACGAGAAGTTCAAGAGCAAGGCCACACTGACTGTAGACACATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTCACCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGACCGCTCCAGTATAGGTACGACGTCTATCCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
79	ADWA20	GATGTGCAGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGTCACTGGCTACTCAATCACCAGTGATTTTGCCTGGAGCTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAACTGGAGTGGATGGGCTACATAGCTACAGTGGTAGCACTGGCTACAACCCATCTCTCAAAGTCTGAATCTCTATCACTCGAGACACATCCAAGAACCAGTTCTTCCTGCAGTTGAATTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCACATATTACTGTACAAGAAGGGGCCTCTACCACTGGGGTTTCTTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA
80	ADWA25	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCC TGAAACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTTCAGTAGCTATGGCATGCTTGGGGTTCCGCCAGACTCCAGACAAGAGGCTGGAGTGGGTGCGAACCATAGTGGTGGTGGTAGTTACACCTACTATCCAGACAGTGTGAAGGGGCGATTACCA TCTCCAGACACAATGCCAAGAACACCCTGTACCTGCAAATGAGCAGTCTGAA GTCTGAGGACACAGCCATGTATTACTGTGCAAGCGACCCCTATTACTACGGT AGAAGGGACCTGGCCTGGATTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA
		SECUENCIAS de V_L - ÁCIDOS NUCLEICOS
81	ADWA2 ADWA13 ADWA16	GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGTCAGGGCAAGTCAGGATATTAGCAATTATTTAACTGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAACTCCTGATCTATTACACATCTAGATTATACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCACCATCAGCAACCTGGAACCTAAAGATATTGCCACTTACTATTGTGTCAGAGTTTAGTGAGCTTCCTCGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA

(continuación)

SEQ ID NO:	Descripción	Secuencia
82	ADWA15	GATGTCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACA GAGTCACCATCAGTTGTAGGGCAAGTCAGGATATTAGCAATTATTTAACTG GTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTACTACACATCA CGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAG ATTTTTCTCTCACCATCAGCAACCTGGAACCTGAAGATATTGCCACTTACTA TTGTCAGCAATACAATAAGGTTCCGCTCACGTTCCGGTGGTGGGACCAAGCTG GAGCTGAAA
83	ADWA11	GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCCTCTGTACCTGTCACTCCTGGAGAGT CAGTTTCCATCTCCTGCAGGTCTACTAAGAGTCTTCTGCATTTTAATGGCAA CACTTACTTGTTTTGGTTCCCTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCGCCTG ATATATTATATGTCCAACCTTGCCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTCAAGTGGCA GAGGGTCAGGAACTGATTTACACTGAGAAATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGA TGTGGGTGTTTATTACTGTATGCAAAAGTCTAGAATATCCATTACGTTCCGGC ACGGGGACAAAATTGGAATAAAAA
84	ADWA10	CAAATTGTTCTCTCCAGTCTCCAGCAATCCTGTCTGCATCTCCAGGGGAGA AGGTCACAATGACTTGCAGGGCCAGTTCAGTGTAAGTTACATGCAGTGGTA CCAGCAGAAGTCAGGATCCTCCCCCAAACCTGGATTTATGCCACATCCAAC CTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTT ACTCTCTCACAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTG CCAGCAGTGGAGTAGTAACCCACCCACGTTCCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAA ATAAAA
85	ADWA8	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCTTCCCTGTCTGCATCTGTGGGAGAAA CTGTCAACCATCACATGTCGAGCAAGTGAGAATATTGACAGTTATTTAGCATG GTATCAGCAGAAACAGGGAAAATCTCCTCAGCTCCTGGTCTATGTGCAACA CTCTTACCAGATGGTGTGCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGCACAC AGTATTCTCTCAAGATCAACAGCCTGCAGTCTGAAGATGTTGCGAGATATTA CTGTCAACATTATTATAATACTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTG GAAATCAAAA
86	ADWA20	GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAATAATTCATGTCCACATCAGTGGGAGACA GGGTGAGCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGAGTAGTGTGTAGCCTG GTATCAACAAAAACCAGGGCAATCTCCTAAACTCCTGATTTACTGGGCATCC ACCCGGCACACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTATACTCTCACCGTCAGCAATGTGCAGGCTGAAGACCTGGCATTATTA CTGTGAGCAACATTATATCACTCCTTACACGTTCCGGAGGGGGGACCAAGCTG GAAATAAAA
87	ADWA25	GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACA GGGTGAGCGTCACCTGCAAGGCCAGTCAGAATGTGGGTACTAATGTAGCCTG GTATCAACAGAAACCAGGGCAATCTCCTAAAGCACTGATTTACTCGGCATCC TACCGGTACAGTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGAGTATTT CTGTGAGCAATATAACAGCTATCCGTACACGTTCCGGAGGGGGGACCAAGCTG GAAATAAAA

LISTADO DE SECUENCIAS

5 <110> The Regents of the University of California, a California corporation
Sheppard, Dean
Atakilil, Amha
Henderson, Neil C.

10 <120> Métodos y composiciones para tratar y prevenir enfermedades asociadas con la integrina alfavbeta8

<130> 81906-904963 (211520PC)

<150> US 61/807.195

<151> 01/04/2013

<160> 87

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 117

<212> PRT

<213> *Mus Musculus*

<400> 1

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

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

Trp Ile Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

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

Ala Thr Glu Gly Gly Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 2

<211> 117

<212> PRT

<213> *Mus musculus*

<400> 2

ES 2 823 648 T3

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

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

Trp Ile Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

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

Arg Asp Lys Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Thr Glu Gly Gly Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
 115

<210> 3
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

<400> 3

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

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

Trp Ile Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

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

Arg Asp Lys Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

ES 2 823 648 T3

85

90

95

Ala Thr Glu Gly Gly Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 4
<211> 117
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

5

<400> 4

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

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

Trp Ile Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Val Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Thr Glu Gly Gly Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

10

<210> 5
<211> 117
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

15

<400> 5

ES 2 823 648 T3

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

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

Trp Ile Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Val Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Thr Glu Gly Gly Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 6

<211> 117

<212> PRT

<213> *Mus musculus*

<400> 6

5

ES 2 823 648 T3

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

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

Trp Ile Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Val Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Thr Glu Gly Gly Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 7

<211> 115

<212> PRT

<213> *Mus musculus*

<400> 7

5

ES 2 823 648 T3

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

<210> 8
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

<400> 8

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

ES 2 823 648 T3

Gln Gly Lys Ala Ser Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Arg Leu Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 9
<211> 122
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<400> 9

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

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

Asn Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Val Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Ala Tyr Tyr Gly Glu Arg Phe His Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 10
<211> 122
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<400> 10

ES 2 823 648 T3

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

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

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Pro Leu Gln Tyr Arg Tyr Asp Val Tyr Pro Met Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 11
<211> 122
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<400> 11

ES 2 823 648 T3

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

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

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Arg Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Pro Leu Gln Tyr Arg Tyr Asp Val Tyr Pro Met Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

5 <210> 12
<211> 122
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

10 <400> 12

ES 2 823 648 T3

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

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

Trp Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Pro Leu Gln Tyr Arg Tyr Asp Val Tyr Pro Met Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 13
<211> 122
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<400> 13

ES 2 823 648 T3

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

<210> 14
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

 <400> 14

5

ES 2 823 648 T3

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

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Phe Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Gly Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Arg Gly Leu Tyr His Trp Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 15
<211> 124
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<400> 15

ES 2 823 648 T3

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

<210> 16
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

<400> 16

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

ES 2 823 648 T3

Lys Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Ser Glu Leu Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 17
<211> 107
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<400> 17

Asp Val Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Lys Val Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 18
<211> 112
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<400> 18

Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Thr Lys Ser Leu Leu His Phe
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Phe Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

ES 2 823 648 T3

Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Tyr Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser
85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 19
<211> 106
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<400> 19

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
35 40 45

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 20
<211> 107
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<400> 20

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

ES 2 823 648 T3

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Thr Leu Leu Pro Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Asn Thr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 21
<211> 107
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<400> 21

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ser Ala
20 25 30

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Val Ser Asn Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ile Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 22
<211> 107
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

ES 2 823 648 T3

<400> 22

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

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

Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

5 <210> 23
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Polipéptido sintético

<400> 23

Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Ile Tyr
1 5 10

15 <210> 24
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polipéptido sintético

25 <400> 24

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

Asp

30 <210> 25
<211> 8
<212> PRT

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Polipéptido sintético
 5 <400> 25

 Glu Gly Gly Asn Trp Glu Asp Tyr
 1 5

 10 <210> 26
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Polipéptido sintético

 <400> 26

 Tyr Ile Asn Pro Thr Thr Gly Tyr Thr Asp Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15

 20 Asp

 <210> 27
 <211> 10
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Polipéptido sintético

 30 <400> 27

 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Trp Met His
 1 5 10

 35 <210> 28
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Polipéptido sintético

 <400> 28

 Glu Ile His Pro Asn Ser Gly Asn Ser Ile Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

 45 Asp

 <210> 29
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 50 <220>
 <223> Polipéptido sintético

<400> 29

Trp Gly Asp Phe Asp Tyr
1 5

5 <210> 30
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Polipéptido sintético

<400> 30

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr Tyr Met Asn
1 5 10

15 <210> 31
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polipéptido sintético

25 <400> 31

Trp Ile Asp Pro Asp Asn Gly Asn Thr Ile Tyr Asp Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

30 <210> 32
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Polipéptido sintético

<400> 32

Arg Leu Leu Met Asp Tyr
1 5

40 <210> 33
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Polipéptido sintético

<400> 33

50 Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Asn Met Asp
1 5 10

<210> 34
<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Polipéptido sintético

<400> 34

Asp	Ile	Asn	Pro	Asn	Ser	Gly	Gly	Ser	Val	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

10

<210> 35

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Polipéptido sintético

<400> 35

20

Trp	Ala	Tyr	Tyr	Gly	Glu	Arg	Phe	His	Tyr	Phe	Asp	Tyr
1				5					10			

<210> 36

<211> 10

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

30

<400> 36

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr	Trp	Met	His
1				5					10

35

<210> 37

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Polipéptido sintético

<400> 37

Asn	Ile	Tyr	Pro	Gly	Ser	Gly	Arg	Thr	Asn	Tyr	Asp	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Ser

45

<210> 38

<211> 13

<212> PRT

50 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

<400> 38

Pro Leu Gln Tyr Arg Tyr Asp Val Tyr Pro Met Asp Tyr
1 5 10

5

<210> 39

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Polipéptido sintético

<400> 39

15

Asn Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Arg Thr Asn Tyr Asp Glu Lys Phe Arg
1 5 10 15

Ser

<210> 40

<211> 11

20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

25

<400> 40

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Phe Ala Trp Ser
1 5 10

30

<210> 41

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Polipéptido sintético

<400> 41

Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Gly Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

40

<210> 42

<211> 10

<212> PRT

45

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

50

<400> 42

Arg Gly Leu Tyr His Trp Gly Phe Pro Tyr
1 5 10

5 <210> 43
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Polipéptido sintético
 <400> 43
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met Ser
 1 5 10
 15 <210> 44
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Polipéptido sintético
 20 <400> 44
 Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly
 25 <210> 45
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Polipéptido sintético
 <400> 45
 Asp Pro Tyr Tyr Tyr Gly Arg Arg Asp Leu Ala Trp Ile Ala Tyr
 1 5 10 15
 35 <210> 46
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Polipéptido sintético
 40 <400> 46
 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
 1 5 10
 50 <210> 47
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Polipéptido sintético
 55

<400> 47

Tyr Thr Ser Arg Leu Tyr Ser
1 5

5

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Polipéptido sintético

<400> 48

15

Gln Gln Phe Ser Glu Leu Pro Arg Thr
1 5

<210> 49
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20

<220>
<223> Polipéptido sintético

25

<400> 49

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser
1 5

30

<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35

<220>
<223> Polipéptido sintético

<400> 50

Gln Gln Tyr Asn Lys Val Pro Leu Thr
1 5

40

<210> 51
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45

<220>
<223> Polipéptido sintético

50

<400> 51

Arg Ser Thr Lys Ser Leu Leu His Phe Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Phe
1 5 10 15

55

<210> 52
<211> 7
<212> PRT

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Polipéptido sintético
 5 <400> 52

 Tyr Met Ser Asn Leu Ala Ser
 1 5
 10 <210> 53
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Polipéptido sintético
 <400> 53

 Met Gln Ser Leu Glu Tyr Pro Phe Thr
 1 5
 20 <210> 54
 <211> 10
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Polipéptido sintético
 30 <400> 54

 Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
 1 5 10
 35 <210> 55
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 40 <223> Polipéptido sintético
 <400> 55

 Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser
 1 5
 45 <210> 56
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Polipéptido sintético
 <400> 56
 55 Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Pro Thr
 1 5

ES 2 823 648 T3

[illegible]

ES 2 823 648 T3

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
1 5

5 <210> 62
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Polipéptido sintético
<400> 62

Gln Gln His Tyr Ile Thr Pro Tyr Thr
1 5

15 <210> 63
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Polipéptido sintético
<400> 63

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala
1 5 10

25 <210> 64
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Polipéptido sintético
35 <400> 64

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
1 5

40 <210> 65
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Polipéptido sintético
<400> 65

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

50 <210> 66
<211> 351
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

55 <220>

<223> Polinucleótido sintético

<400> 66

caggtccagc	ttcagcagtc	tggggctgaa	ctggcaaaac	ctggggcctc	aatgaagatg	60
tcctgcaagg	cttctggcta	caccttttct	agctactgga	tatattgggt	aaaacagagg	120
cctggacagg	gtctggaatg	gattggatac	attaatccta	ccactggtta	tactgagtac	180
aatcagaagt	tcagggacaa	ggccacattg	actgcagaca	aatcctccaa	cacagcctac	240
atgcaactga	gcagcctgac	atctgaggac	tctgcagtct	attactgtgc	aacagagggg	300
ggtaattggg	aggactactg	gggccaaggc	accactctca	cagtctcctc	a	351

5

<210> 67

<211> 351

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polinucleótido sintético

15

<400> 67

caggtccagc	ttcagcagtc	tggggctgaa	ctggcaaaac	ctggggcctc	aatgaagatg	60
tcctgcaagg	cttctggcta	caccttttct	agctactgga	tatattgggt	aaaacagagg	120
cctggacagg	gtctggaatg	gattggatac	attaatccta	ccactggtta	tactgagtac	180
aatcagaagt	tcagggacaa	ggtcacattg	actgcagaca	aatcctccaa	cacagcctac	240
atgcaactga	gcagcctgac	atctgaggac	tctgcagtct	attactgtgc	aacagagggg	300
ggtaattggg	aggactactg	gggccaaggc	accactctca	cagtctcctc	a	351

20

<210> 68

<211> 351

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Polinucleótido sintético

<400> 68

caggtccagc	ttcagcagtc	tggggctgaa	ctgacaaaac	ctggggcctc	aatgaagatg	60
tcctgcaagg	cttctggcta	caccttttct	agctactgga	tatattgggt	aaaacagagg	120
cctggacagg	gtctggaatg	gattggatac	attaatccta	ccactggtta	tactgagtac	180
aatcagaagt	tcagggacaa	ggccacattg	actgcagaca	aatcctccaa	cacagcctac	240
atgcaactga	gcagcctgac	atctgaggac	tctgcagtct	attactgtgc	aacagagggg	300
ggtaattggg	aggactactg	gggccaaggc	accactctca	cagtctcctc	a	351

30

<210> 69

<211> 351

<212> ADN

	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Polinucleótido sintético	
5	<400> 69	
	caggtccagc ttcagcagtc tggggctgaa ctggcaaaac ctggggcctc agtgaagatg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttttct agctactgga tatattgggt aaaacagagg	120
	cctggacagg ttctggaatg gattggatac attaatccta ccactgggta cactgactac	180
	aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actgcagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aacagagggga	300
	ggtaattggg aggactactg gggccaaggc accactctca cagtctcctc a	351
10	<210> 70	
	<211> 351	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Polinucleótido sintético	
	<400> 70	
	caggtccagc ttcagcagtc tggggctgaa ctggcaaaac ctggggcctc agtgaagatg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttttct agctactgga tatattgggt aaaacagagg	120
	cctggacagg ttctggaatg gattggatac attaatccta ccactgggta cactgactac	180
	aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actgcagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctacagtct attactgtgc aacagagggga	300
20	ggtaattggg aggactactg gggccaaggc accactctca cagtctcctc a	351
	<210> 71	
	<211> 351	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Polinucleótido sintético	
30	<400> 71	
	caggtccagc ttcagcagtc tggggctgaa ctgacaaaac ctggggcctc agtgaagatg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttttct agctactgga tatattgggt aaaacagagg	120
	cctggacagg ttctggaatg gattggatac attaatccta ccactgggta cactgactac	180
	aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actgcagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aacagagggga	300
	ggtaattggg aggactactg gggccaaggc accactctca cagtctcctc a	351

5	<210> 72		
	<211> 345		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
10	<223> Polinucleótido sintético		
	<400> 72		
	caggtccaac tgcagcagcc tgggtctgtg ctggtgaggc ctggagcttc agtgaagttg	60	
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcacc agctcctgga tgcactgggc gaagcagagg	120	
	cctggacaag gccttgagtg gattggagag attcatccta atagtggtaa tagtatctac	180	
15	aatgagaagt tcaaggacaa ggccacactg actgtagaca catcctccag cacagcctac	240	
	gtggatctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagatggggg	300	
	gattttgact actggggcca aggcaccact ctcacagtct cctca	345	
	<210> 73		
	<211> 345		
20	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Polinucleótido sintético		
	<400> 73		
25	gaggttcagc tgcagcagtc tggggctgag cttgtgaggc ctggggcctt tgtcaagttg	60	
	tcctgcaagg cttctggctt caacattaaa gactactata tgaattgggt gttgcagagg	120	
	cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg acaatggtaa tactatatat	180	
	gacccgaagt tccagggcaa ggccagtata acagcagaca catcctccaa cacagcctac	240	
	ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtgc tagaagacta	300	
30	cttatggact actgggggtca aggaacctca gtcaccgtct cctca	345	
	<210> 74		
	<211> 366		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
30	<223> Polinucleótido sintético		
	<400> 74		

ES 2 823 648 T3

gaggtcctgc tgcaacagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60
ccctgcaagg cttctggata cacattcact aactacaaca tggactgggt gaagcagagc 120
catggaaaga gccttgagt gattggagat attaatccta acagtgggtg ttctgtctac 180
aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240
atggagctcc gcagcctgac atctgaggac actgcagtct attactgtgc aagatggggc 300
tactatggtg aaaggtttca ctactttgac tactggggcc aaggcaccac tctcacagtc 360
tcctca 366

<210> 75
<211> 366
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polinucleótido sintético

<400> 75

caggtccaac tgcagcaacc tgggtctgag ctggtgaggc ctggagcttc agtgaagctg 60
tcctgcaagg cttcaggcta cacattcacc agctactgga tgcactgggt gaagcagagg 120
cctggacaag gccttgagt gattggaaat atttatcctg gtagtggtag aactaactac 180
gacgagaagt tcaagagcaa ggccacactg actgtagaca catcctccag cacagcctac 240
atgcaactca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtac aagaccgctc 300
cagtataggt acgacgtcta tcctatggac tactggggtc aaggaacctc agtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 76
<211> 366
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polinucleótido sintético

<400> 76

ES 2 823 648 T3

	caggtccaac tgcagcaacc tgggtctgag ctggtgaggc ctggagcttc agtgaagctg	60
	tcctgcaagg cttcaggcta cacattcacc agctactgga tgcactgggt gaagcagagg	120
	cctggacaag gccttgagtg gattggaaat atttatcctg gtagtggtag aactaactac	180
	gacgagaagt tcaggagcaa ggccacactg actgtagaca catcctccag cacagcctac	240
	atgcaactca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtac aagaccgctc	300
	cagtataggt acgacgtcta tcctatggac tactggggtc aaggaacctc agtcaccgtc	360
	tcctca	366
5	<210> 77 <211> 366 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Polinucleótido sintético <400> 77	
	caggtccaac tgcagcaacc tgggtctgag ctggtgaggc ctggagcttc aatgaagctg	60
	tcctgcaagg cttcaggcta cacattcacc agctactgga tgcactgggt gaagcagagg	120
	cctggacaag gccttgagtg gattggaaat atttatcctg gtagtggtag aactaactac	180
	gacgagaagt tcaagagcaa ggccacactg actgtagaca catcctccag cacagcctac	240
	atgcaactca ccagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtac aagaccgctc	300
	cagtataggt acgacgtcta tcctatggac tactggggtc aaggaacctc agtcaccgtc	360
	tcctca	366
15	<210> 78 <211> 366 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
20	<220> <223> Polinucleótido sintético <400> 78	
	caggtccaac tgcagcaacc tgggtctgag ctggtgaggc ctggagcttc agtgaagctg	60
	tcctgcaagg cttcaggcta cacattcacc agctactgga tgcactgggt gaagcagaag	120
	cctggacaag gccttgagtg gattggaaat atttatcctg gtagtggtag aactaactac	180
	gacgagaagt tcaagagcaa ggccacactg actgtagaca catcctccag cacagcctac	240
	atgcaactca ccagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtac aagaccgctc	300
	cagtataggt acgacgtcta tcctatggac tactggggtc aaggaacctc agtcaccgtc	360
25	tcctca	366
	<210> 79	

	<211> 357	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Polinucleótido sintético	
	<400> 79	
	gatgtgcagc ttcaggagtc gggacctggc ctggtgaaac cttctcagtc tctgtccctc	60
	acctgcactg tcactggcta ctcaatcacc agtgattttg cctggagctg gatccggcag	120
	tttccaggaa acaaactgga gtggatgggc tacataagct acagtggtag cactggctac	180
	aaccatctc tcaaaagtcg aatctctatc actcgagaca catccaagaa ccagttcttc	240
	ctgcagttga attctgtgac tactgaggac acagccacat attactgtac aagaaggggc	300
10	ctctaccact gggggtttcc ttactggggc caagggactc tggtcactgt ctctgca	357
	<210> 80	
	<211> 372	
	<212> ADN	
15	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Polinucleótido sintético	
20	<400> 80	
	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc	60
	tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt agctatggca tgtcttgggt tcgccagact	120
	ccagacaaga ggctggagtg ggtcgcaacc attagtgggt gtggtagtta cacctactat	180
	ccagacagtg tgaaggggcg attcaccatc tccagacaca atgccaagaa caccctgtac	240
	ctgcaaatga gcagtctgaa gtctgaggac acagccatgt attactgtgc aagcgacccc	300
	tattactacg gtagaaggga cctggcctgg attgcttact ggggccaagg gactctggtc	360
	actgtctctg ca	372
25	<210> 81	
	<211> 321	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Polinucleótido sintético	
	<400> 81	

ES 2 823 648 T3

gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60
atcagttgca gggcaagtca ggatattagc aattatttaa actggtatca gcagaaacca 120
gatggaactg ttaaactcct gatctattac acatctagat tatactcagg agtcccatca 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat tattctctca ccatcagcaa cctggaacct 240
aaagatattg ccacttacta ttgtcagcag tttagtgagc ttcctcggac gttcgggtgga 300
ggcaccaagc tggaaatcaa a 321

<210> 82
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polinucleótido sintético

<400> 82

gatgtccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60
atcagttgta gggcaagtca ggatattagc aattatttaa actggtatca gcagaaacca 120
gatggaactg ttaaactcct gatctactac acatcacgat tacactcagg agtcccatca 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat ttttctctca ccatcagcaa cctggaacct 240
gaagatattg ccacttacta ttgtcagcaa tacaataagg ttccgctcac gttcgggtggt 300
gggaccaagc tggagctgaa a 321

<210> 83
<211> 336
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polinucleótido sintético

<400> 83

gatattgtga tgactcaggc tgcaccctct gtacctgtca ctctgggaga gtcagtttcc 60
atctcctgca ggtctactaa gagtcttctg catttttaatg gcaaacactta cttgttttgg 120
ttcctgcaga ggccaggcca gtctcctcag cgcctgatat attatatgtc caaccttgcc 180
tcaggagttcc cagacagggt cagtggcaga gggtcaggaa ctgatttcac actgagaatc 240
agtagagtgg aggctgagga tgtgggtgtt tattactgta tgcaaagtct agaatatcca 300
ttcacgttcg gcacggggac aaaattggaa ataaaa 336

<210> 84
<211> 318
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polinucleótido sintético

ES 2 823 648 T3

<400> 84

caaattgttc tctcccagtc tccagcaatc ctgtctgcat ctccagggga gaaggtcaca	60
atgacttgca gggccagttc aagtgttaagt tacatgcact ggtaccagca gaagtcagga	120
tcttccccca aaccctggat ttatgccaca tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
ttcagtggca gtgggtctgg gacctcttac tctctcacia tcagcagagt ggaggctgaa	240
gatgctgcca cttattactg ccagcagtgg agtagtaacc caccacgtt cggagggggg	300
accaagctgg aaataaaa	318

5

<210> 85
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Polinucleótido sintético

15

<400> 85

gacatccaga tgactcagtc tccagcttcc ctgtctgcat ctgtgggaga aactgtcacc	60
atcacatgtc gagcaagtga gaatattgac agttatttag catggtatca gcagaaacag	120
ggaaaatctc ctcagctcct ggtctatgct gcaacactct taccagatgg tgtgccatca	180
aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag tattctctca agatcaacag cctgcagtct	240
gaagatgttg cgagatatta ctgtcaacat tattataata ctccgtggac gttcggtgga	300
ggcaccaagc tggaaatcaa a	321

20

<210> 86
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

25

<220>
<223> Polinucleótido sintético

<400> 86

gacattgtga tgaccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtgggaga cagggtcagc	60
atcacctgca aggccagtca ggatgtgagt agtgctgtag cctggtatca acaaaaacca	120
gggcaatctc ctaaactcct gatttactgg gcattccacc ggcacactgg agtccctgat	180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat tatactctca ccgtcagcaa tgtgcaggct	240
gaagacctgg cactttatta ctgtcagcaa cattatatca ctcttacac gttcggaggg	300
gggaccaagc tggaaataaa a	321

30

<210> 87
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polinucleótido sintético

5 <400> 87

gacattgtga tgacccagtc tcaaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	60
gtcacctgca aggccagtca gaatgtgggt actaatgtag cctggatatca acagaaacca	120
gggcaatctc cttaaagcact gatttactcg gcatacctacc ggtacagtgg agtccctgat	180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcaa tgtgcagtct	240
gaagacttgg cagagtattt ctgtcagcaa tataacagct atccgtacac gttcggaggg	300
gggaccaagc tqgaaataaa a	321

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a la integrina $\beta 8$ humana e inhibe la adhesión del péptido asociado a latencia (LAP) a $\alpha v\beta 8$, en donde el anticuerpo comprende:

las regiones determinantes de complementariedad HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de DYYMN (SEQ ID NO: 95), WIDPDNGNTIYDPKFQG (SEQ ID NO: 31) y RLLMDY (SEQ ID NO: 32), respectivamente y las regiones determinantes de complementariedad LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de RSTKSLHFNGNTYLF (SEQ ID NO: 51), YMSNLAS (SEQ ID NO: 52) y MQSLEYPFT (SEQ ID NO: 53), respectivamente.

2. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo comprende una o más regiones marco conservadas humanas.

3. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de la reivindicación 1.

4. Un ácido nucleico aislado que codifica el anticuerpo de la reivindicación 1.

5. Un vector de expresión que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 4.

6. Una célula hospedadora aislada que comprende el vector de la reivindicación 5.

7. El anticuerpo de la reivindicación 1 o 2 para su uso en un método para tratar o prevenir una enfermedad seleccionada de asma, esclerosis múltiple, lesión pulmonar aguda, artritis reumatoide, psoriasis y enfermedad pulmonar obstructiva crónica en un ser humano, comprendiendo el método administrar una cantidad suficiente de dicho anticuerpo al ser humano, tratando o previniendo así la enfermedad.

8. El anticuerpo para el uso de la reivindicación 7, en donde el ser humano tiene una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en asma, esclerosis múltiple y lesión pulmonar aguda y al menos un síntoma de la enfermedad mejora mediante la activación reducida de TGF β .

9. El anticuerpo para el uso de la reivindicación 7, en donde el ser humano tiene una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en artritis reumatoide, psoriasis y enfermedad pulmonar obstructiva crónica y al menos un síntoma de la enfermedad mejora mediante la activación reducida de TGF β .

FIGURA 1

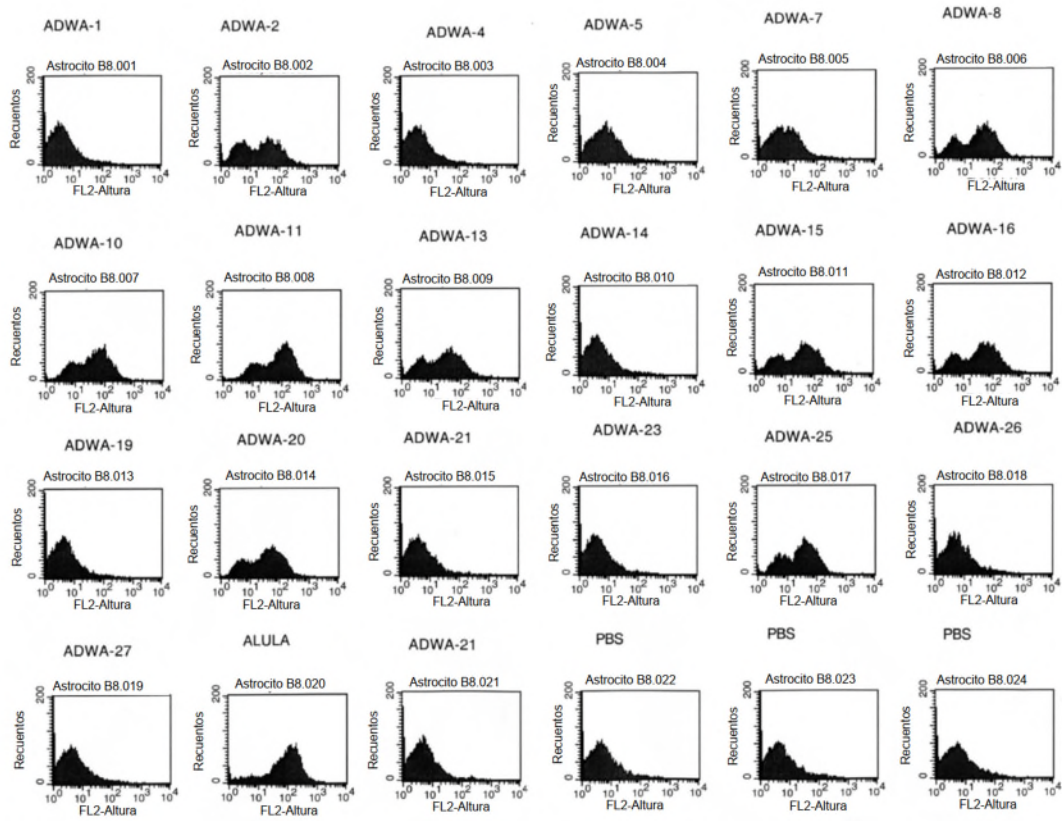


FIGURA 2

LAP de adhesión a SWbeta8 3 ug/ml (ADWA 40 ug/ml)

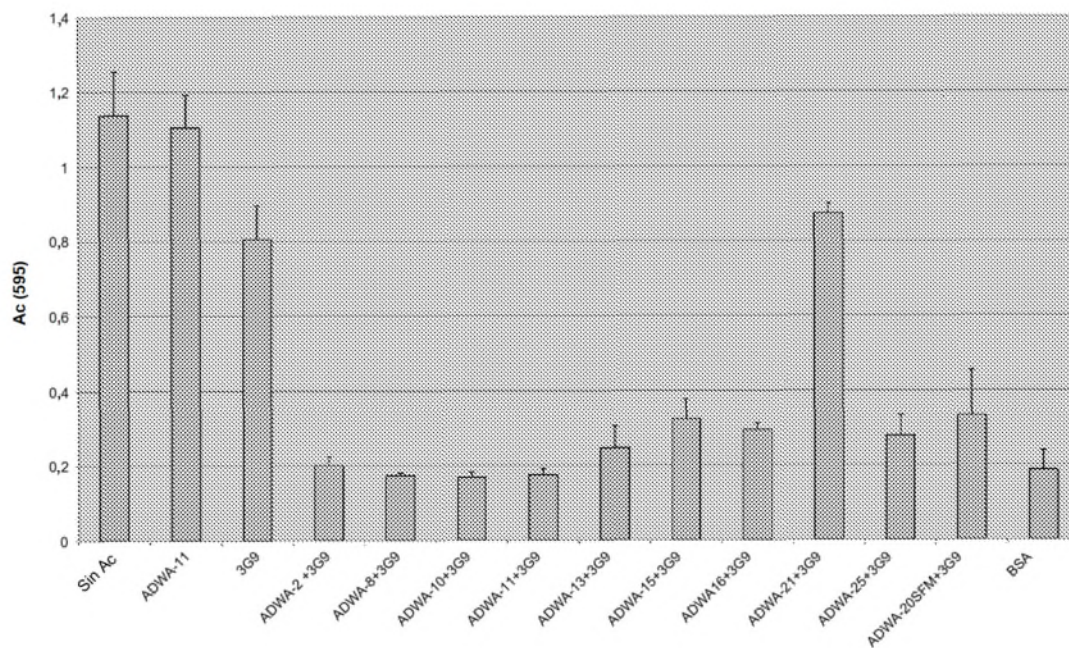


FIGURA 3

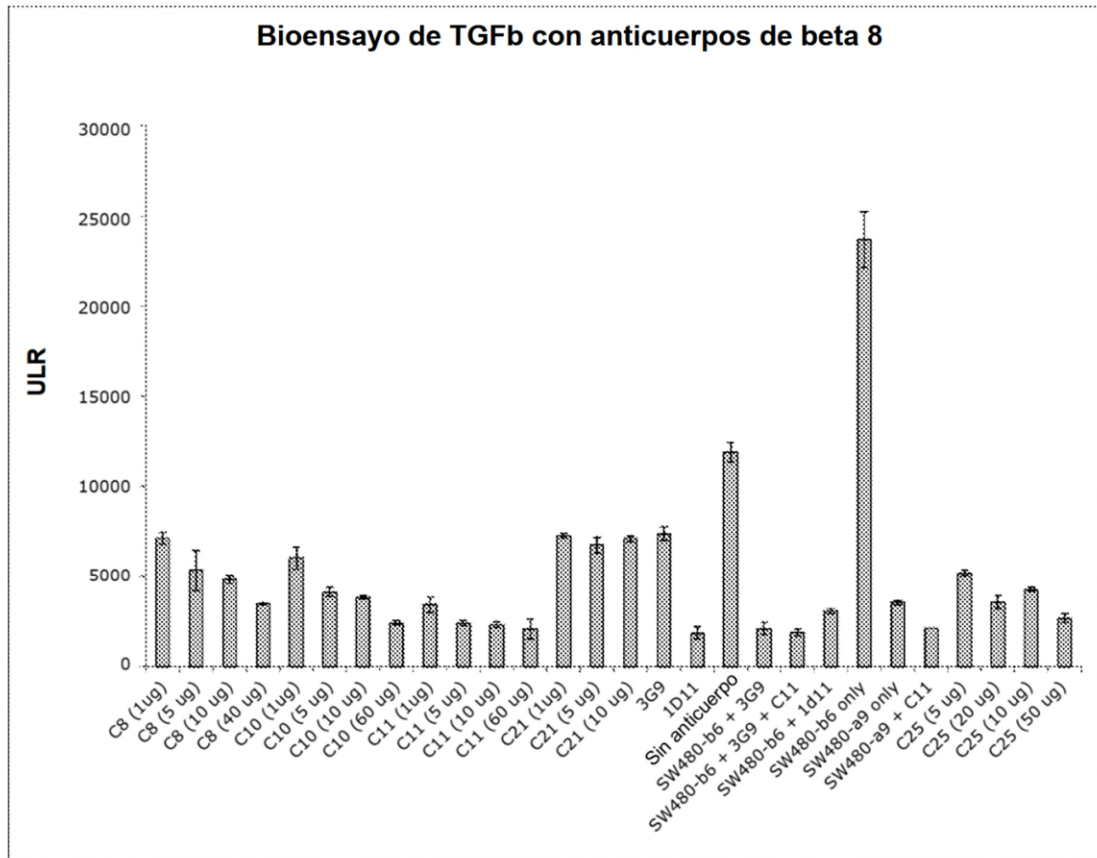


FIGURA 4

**Ensayo de activación de TGF-beta
(50.000 células SNB-19 + Anticuerpo bloqueante de la integrina beta 8: Adawa-2)**

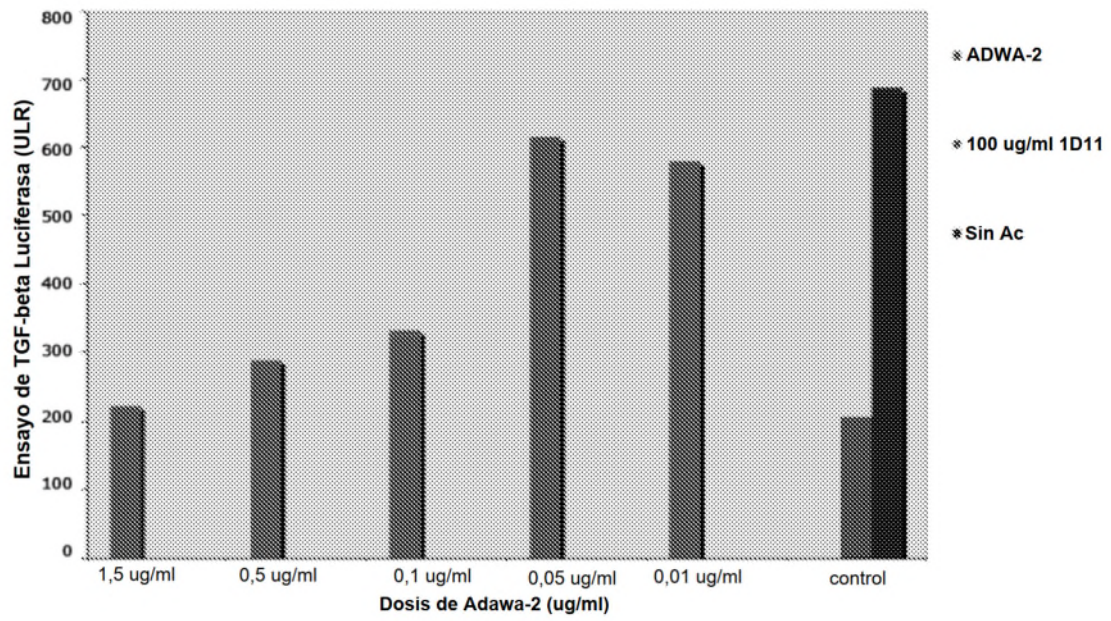


FIGURA 5

Ensayo de activación de TGF-beta
(50.000 células SNB-19 + Anticuerpo bloqueante de la integrina beta 8: Adawa-11)

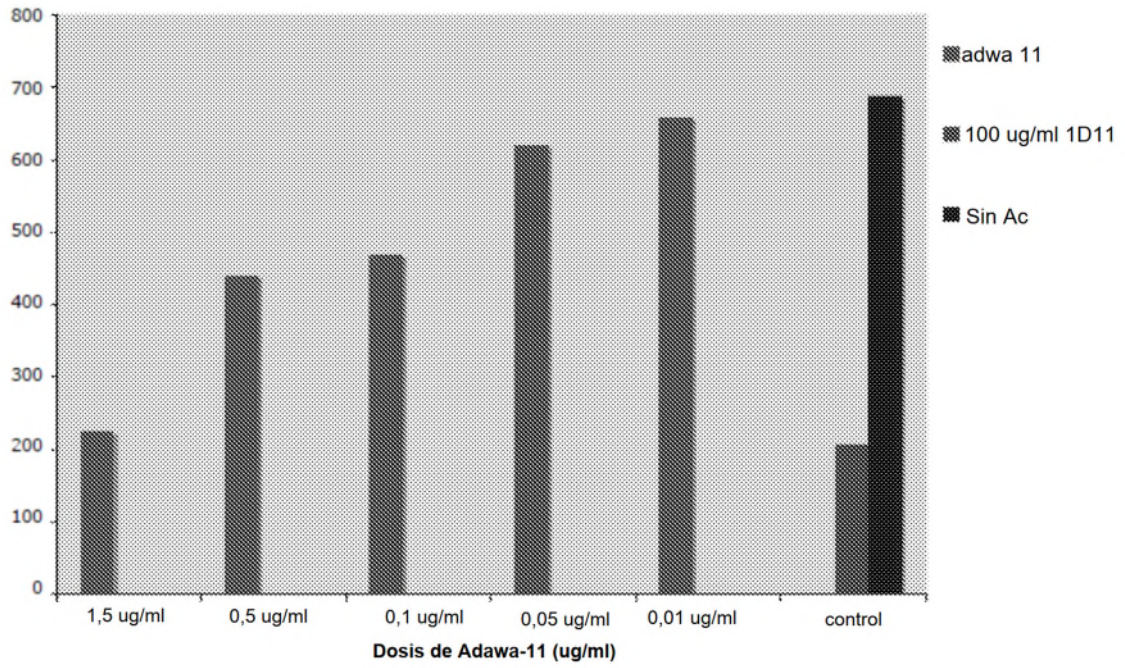


FIGURA 6

**Ensayo de activación de TGF-beta
(50.000 células SNB-19 + Anticuerpo bloqueante de la integrina beta 8: Adawa-13)**

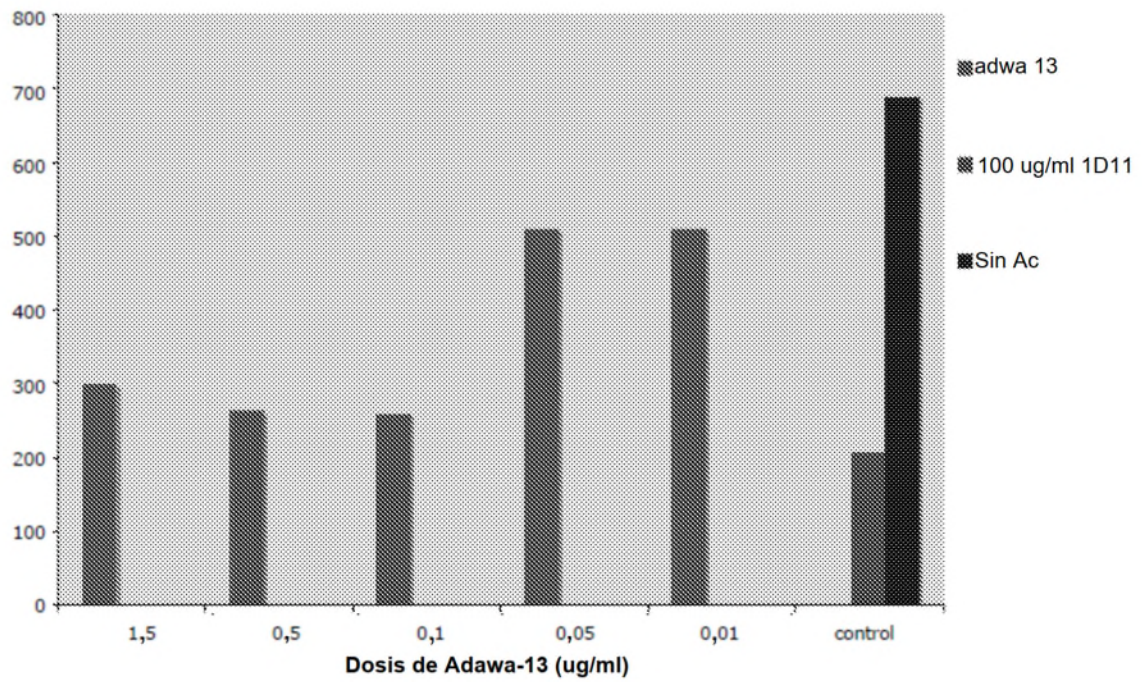


FIGURA 7

**Ensayo de activación de TGF-beta
(50.000 células SNB-19 + Anticuerpo bloqueante de la integrina beta 8: Adawa-15)**

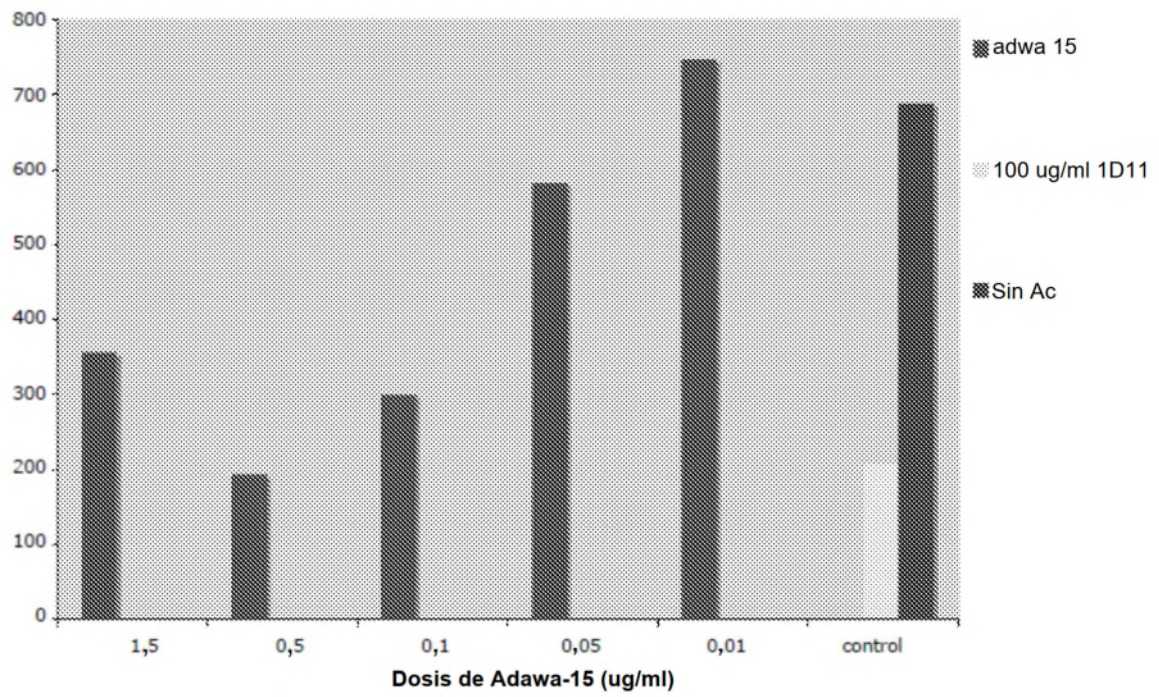


FIGURA 8

Ensayo de activación de TGF-beta
(50.000 células SNB-19 + Anticuerpo bloqueante de la integrina beta 8: Adawa-16)

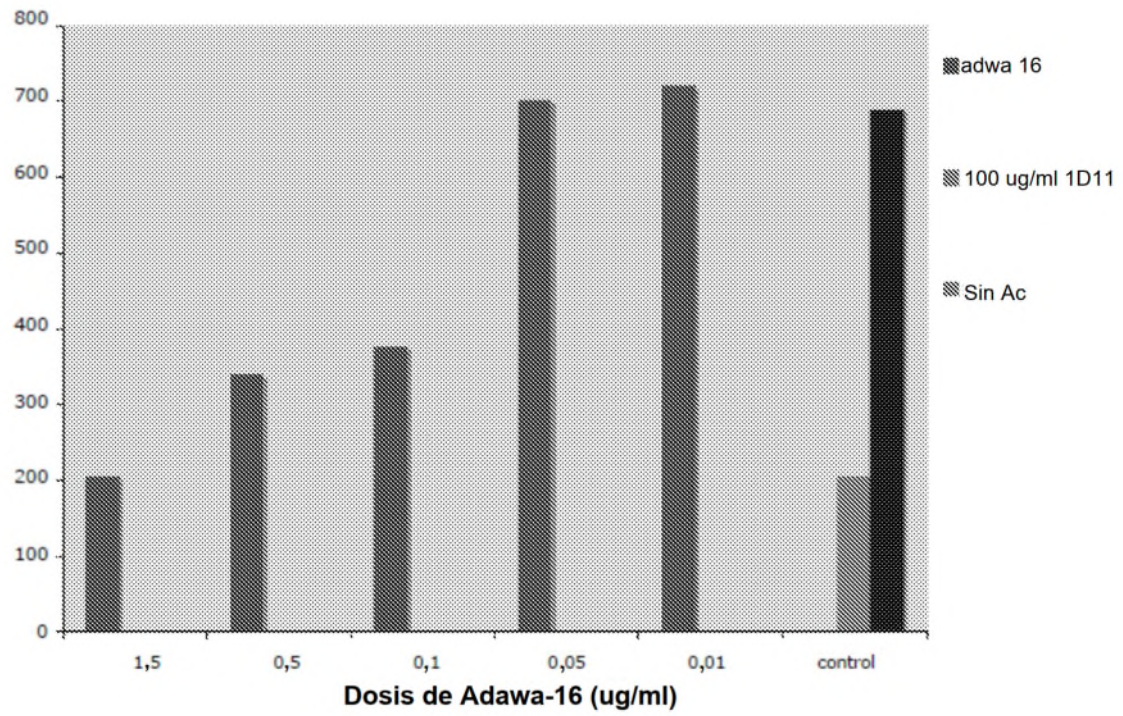


FIGURA 9

Unión mediada por LAP de células SNB-19 tratadas con 3G9 y ADWA-11

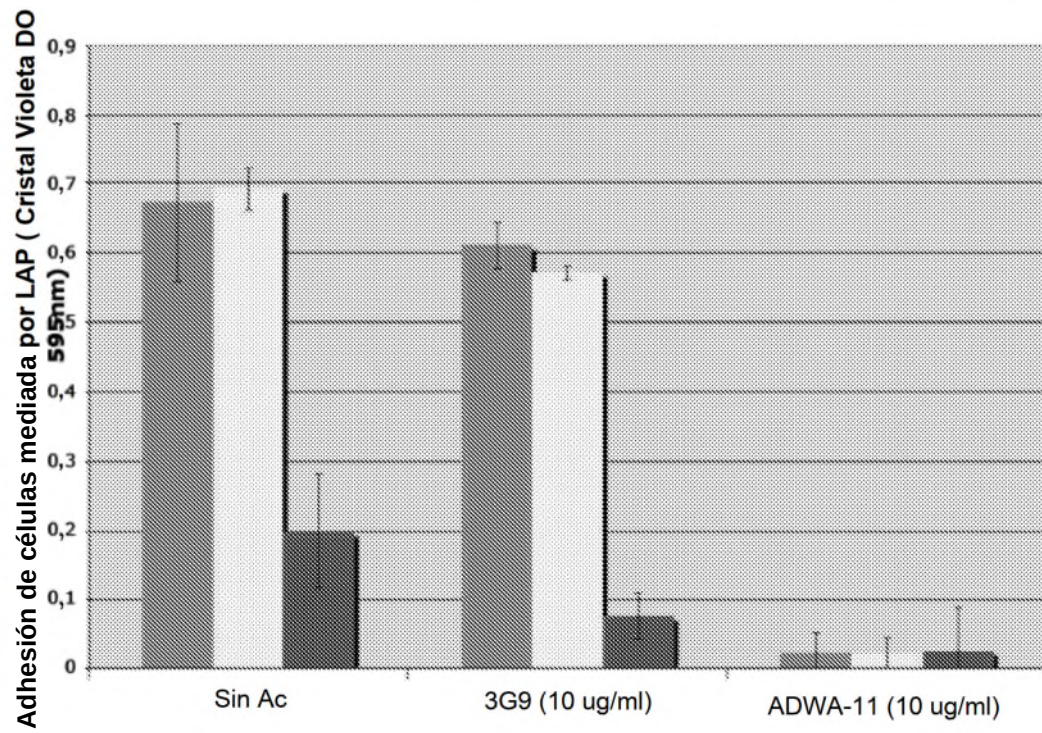


FIGURA 10

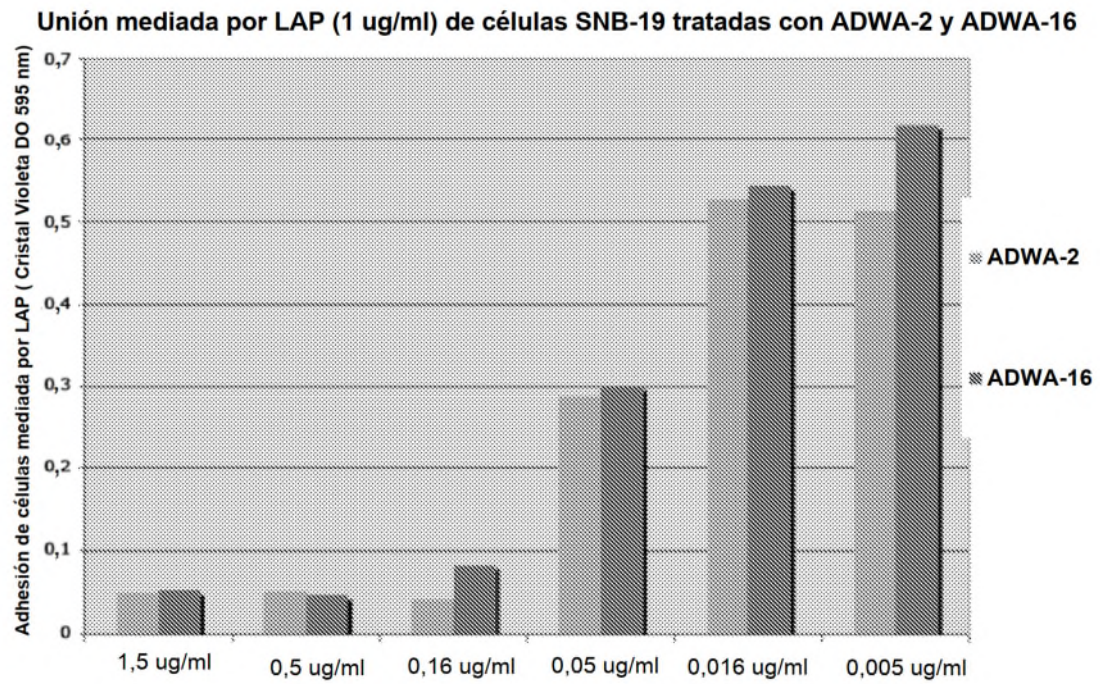


FIGURA 11

Unión mediada por LAP de células LN229 tratadas con 3G9 y ADWA-11

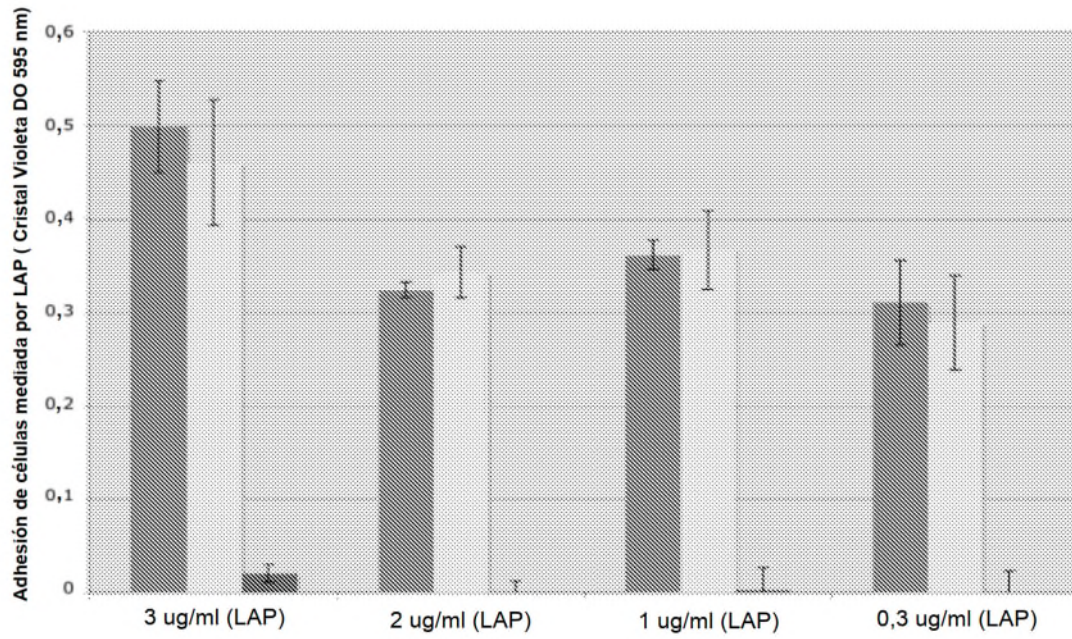


FIGURA 12

Unión mediada por LAP (1 ug/ml) de células SNB-19 tratadas con ADWA 2, 8, 10, 11 y 13

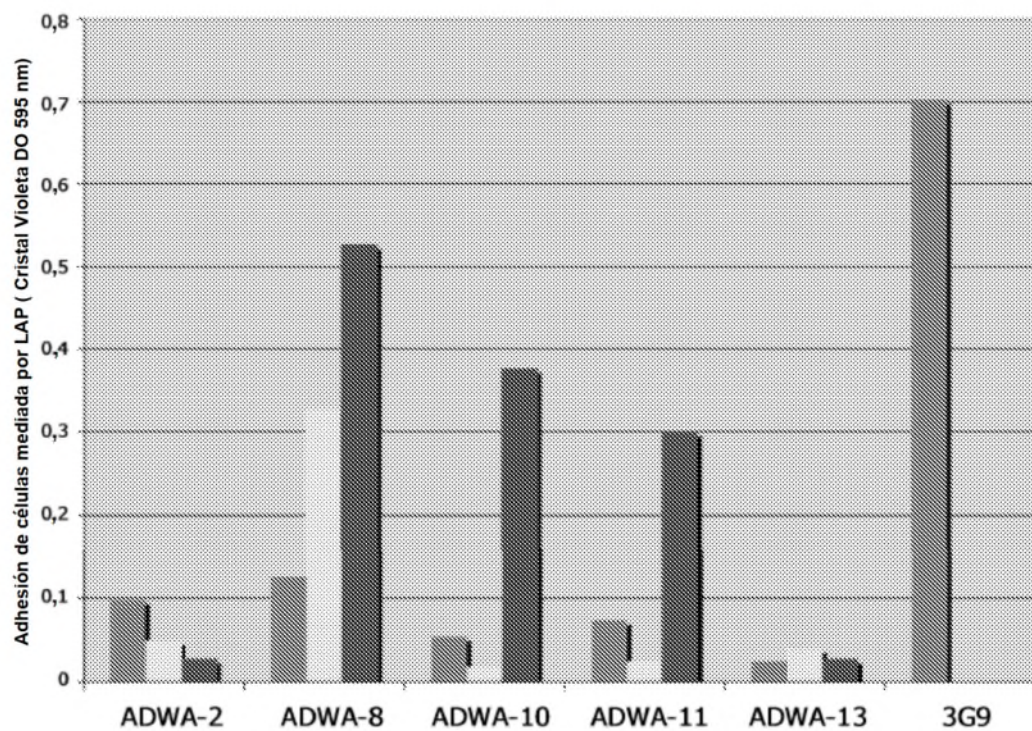


FIGURA 13

Unión mediada por LAP (1 ug/ml) de células SNB-19 tratadas con ADWA 15, 16, 20 y 25

