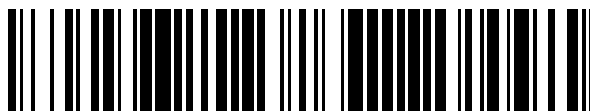


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 378 767**

51 Int. Cl.:
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04804973 .8**
96 Fecha de presentación: **21.12.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1706427**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **04.10.2006**

54 Título: **Molécula de unión humana contra CD1a**

30 Prioridad:
23.12.2003 WO PCT/EP03/51096
09.09.2004 WO PCT/EP2004/052110

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
17.04.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
17.04.2012

73 Titular/es:
CRUCCELL HOLLAND B.V.
ARCHIMEDES WEG 4
2333 CN LEIDEN, NL y
JOHNS HOPKINS UNIVERSITY

72 Inventor/es:
THROSBY, Mark;
VAN MEIJER, Marja;
GERMERAAD, Wilfred Thomas Vincent;
ARCECI, Robert John y
KRUISBEEK, Ada Maria

74 Agente/Representante:
Arias Sanz, Juan

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).

ES 2 378 767 T3

DESCRIPCIÓN

Molécula de unión humana contra CD1a

Campo de la invención

5 La invención se refiere a la identificación de moléculas de unión humanas capaces de unirse específicamente a CD1a, a inmunoconjugados que comprenden estas moléculas de unión y a procedimientos de obtención de las moléculas de unión. La invención comprende además el uso de las moléculas de unión humanas en medicina, en concreto para el diagnóstico, prevención y/o tratamiento de enfermedades neoplásicas e histiocitosis de células de Langerhans.

Antecedentes de la invención

10 Las moléculas CD1 son una familia de moléculas que se expresan en las superficies de células dendríticas, monocitos y algunos timocitos. Las moléculas CD1 son similares a las moléculas MHC de clase I en cuanto que están implicadas en presentación de antígenos. Hasta el momento se han identificado cinco genes de CD1 en seres humanos: CD1a, CD1b, CD1c, CD1d y CD1e. Los productos de cuatro de estos cinco genes CD1 han sido definidos serológicamente. Se denominan CD1a, CD1b, CD1c y CD1d y se distinguen por cadenas pesadas únicas con pesos moleculares aproximados de 49kDa, 45kDa, 43kDa y 48kDa, respectivamente.

15 El hecho de que moléculas CD1 sean expresadas por células de leucemia aguda y crónica de los linajes pre-B, B, T y no linfocitoide hace que las CD1a sean en principio un objetivo para detectar o atacar estas enfermedades (Salamone y col. (1990a), Salamone (1990b), Merle-Beral y col. (1989)).

20 Además, las moléculas CD1a están presentes sobre células de Langerhans (las cuales son las principales células dendríticas presentadoras de antígeno de la piel) (Teunissen (1992)). Esto hace a las CD1a en principio un objetivo para detectar o tratar la histiocitosis de células de Langerhans (LCH), una neoplasia proliferativa clonal con manifestaciones clínicas variables, que van desde lesiones autolimitadas aisladas hasta enfermedad multisistémica que puede poner en peligro la vida.

25 Las moléculas de unión que se unen específicamente a CD1 pueden ser muy útiles en el diagnóstico y el tratamiento de los trastornos mencionados anteriormente. Se conocen en la técnica varios anticuerpos monoclonales murinos dirigidos contra CD1 (Kelly (1994), Amiot y col. (1986), Furue y col. (1992)). Además, Moulon y col. ((J. Invest. Dermatol. 97:524-528, 1991) han divulgado diferentes anticuerpos monoclonales murinos anti-CD1a que reconocen diferentes epítomos de CD1a sobre la superficie de células de Langerhans. Murray y col. (J. Invest. Dermatol. 114:127-134, 2001) han investigado el potencial de uno de estos anticuerpos murinos anti-CD1a en el diagnóstico y

30 tratamiento de un modelo de histiocitosis de células de Langerhans. Sin embargo, los anticuerpos murinos, en formato desnudo o inmunoconjugado, tienen un uso limitado *in vivo* debido a los problemas asociados con la administración de anticuerpos murinos a seres humanos, tales como una semivida en suero corta, una incapacidad de desencadenar determinadas funciones efectoras humanas y provocación de una respuesta inmunitaria drástica no deseada contra el anticuerpo murino en un ser humano (la reacción "humana anti-anticuerpo de ratón" (HAMA))

35 (van Kroonenburgh y Pauweis (1988)).

En general, los intentos de superar los problemas asociados con el uso de anticuerpos totalmente murinos en seres humanos, han implicado modificar genéticamente los anticuerpos para que sean más "de tipo humano". Una Cebadora etapa del procedimiento de humanización fue preparar anticuerpos quiméricos, es decir, anticuerpos en los que las regiones variables de las cadenas de los anticuerpos son de origen murino y las regiones constantes de las cadenas de los anticuerpos son de origen humano. Posteriormente, los dominios entre los dominios variables que especifican la unión al antígeno fueron reemplazados por sus correspondientes humanos, conduciendo a los denominados anticuerpos humanizados. Una desventaja de estos anticuerpos quiméricos y humanizados es que aún retienen algunas secuencias murinas y, por lo tanto, aún provocan una reacción inmunitaria no deseada, especialmente cuando se administran durante periodos de tiempo prolongados.

45 En vista de su beneficio en tratamientos, existe aún una necesidad de moléculas de unión humanas contra CD1a.

La presente invención proporciona moléculas de unión humanas contra CD1a que pueden usarse en medicina, en concreto para diagnóstico, prevención y/o tratamiento de trastornos asociados con CD1a.

Descripción de las figuras

50 Figura 1. Aislamiento y diferenciación de monocitos en células dendríticas inmaduras (CD) mediante IL-4 y GM-CSF y en DC maduras mediante un cóctel adicional que contiene IL-1 β , IL-6, TNF- α , PGE2. En las imágenes de FACS se indica una mezcla de LSP, usada como células sustractoras durante la selección de fagos, y DC cultivadas (en el recuadro), en la que la cantidad de PBL es aproximadamente 10 veces la cantidad de CD.

Figura 2. El análisis por FACS de la unión de un anticuerpo en fago monoclonal representativo (llamado SC02-113) a DC cultivadas inmaduras (arriba, izquierda) y maduras (arriba, derecha) y un transfectante CD1a en células C1R

(abajo, derecha), comparado con el control negativo de C1R con transfección simulada (abajo, izquierda).

Figura 3. Unión de los anticuerpos monoclonales humanos anti-CD1a humanas llamados CR2113, CR2114, CR2115, CR2116, CR2117 y CR2118 y anticuerpos de ratón anti-CD1a humanas, anticuerpos de ratón anti-CD1b humanas, anticuerpos de ratón anti-CD1c humanas y anticuerpos de ratón anti-CD1d humanas comercialmente disponibles a los transfectantes CR1-CD1a y B16-CD1a y transfectantes simulados de CR1 y B16. La unión significativa de anticuerpos monoclonales humanos anti-CD1a humanas a transfectantes de CD1a comparada con los transfectantes simulados se indica con **. La significancia se ensayó con una prueba de la t no pareada de dos colas ($p < 0,05$).

Figura 4. Unión de los anticuerpos monoclonales humanos anti-CD1a humanas llamados CR2113, CR2114, CR2115, CR2116, CR2117 y CR2118 y anticuerpos de ratón anti-CD1a humanas, anticuerpos de ratón anti-CD1b humana, anticuerpos de ratón anti-CD1c humana y anticuerpos de ratón anti-CD1d humana a los transfectantes CR1-CD1b, CR1-CD1c y CR1-CD1d. La unión significativa de anticuerpos monoclonales humanos anti-CD1a humanas a los transfectantes CR1-CD1b, CR1-CD1c o CR1-CD1d comparada con los transfectantes simulados de CR1 se indica con **. La significancia se ensayó con una prueba de la t no pareada de dos colas ($p < 0,05$).

Figura 5. Las Figuras 5A-D muestran curvas de anticuerpos monoclonales humanos anti-CD1a humanas no marcados y marcados con biotina llamados CR2113, CR2114, CR2117 y CR2118 en transfectantes B16-CD1a.

Figura 6. Las Figuras 6A-D muestran curvas de competición para CR2113, CR2114, CR2117 y CR2118 frente a anticuerpos monoclonales humanos anti-CD1a humanas.

Descripción de la invención

A continuación se presentan definiciones de términos/expresiones como se usan en la invención.

Definiciones

Leucemia mieloide aguda

Como se usa en el presente documento, la expresión "leucemia mieloide aguda" se caracteriza por una proliferación descontrolada de células progenitoras de origen mieloide incluyendo, pero sin limitarse a, células progenitoras mieloides, células progenitoras mielomonocíticas, megacarioblastos inmaduros. Los subtipos de leucemia mieloide aguda (AML) incluyen, de acuerdo con la clasificación FAB, FAB-M0, FAB-M1, FAB-M2, FAB-M3, FAB-M4, FAB-M5, FAB-M6 y FAB-M7.

Secuencia de aminoácidos

La expresión "secuencia de aminoácidos" como se usa en el presente documento se refiere a moléculas naturales o sintéticas y a una secuencia de un péptido, oligopéptido, polipéptido o proteína.

Apoptosis

Como se usa en el presente documento, el término "apoptosis" se refiere a cualquier muerte celular, ordenada o controlada que resulta de la compleja cascada de acontecimientos celulares que se producen en etapas específicas de la diferenciación celular y en respuesta a estímulos específicos. La apoptosis se caracteriza y/o está acompañada por uno o más cambios celulares característicos, incluyendo, pero sin limitarse a, condensación del citoplasma, pérdida de microvellosidades de la membrana plasmática, segmentación del núcleo, degradación de ADN cromosómico o pérdida de función mitocondrial. La apoptosis puede determinarse y medirse, por ejemplo, mediante ensayos de viabilidad celular, análisis por FACS o electroforesis de ADN, todas las cuales se conocen en la técnica.

Molécula de unión

Como se usa en el presente documento, la expresión "molécula de unión" se refiere a una inmunoglobulina intacta que incluye anticuerpos monoclonales, tales como anticuerpos quiméricos, humanizados o humanos monoclonales, o a un dominio de unión a antígeno y/o variable que comprende un fragmento de una inmunoglobulina que compite con la inmunoglobulina intacta por unirse específicamente al compañero de unión de la inmunoglobulina, p. ej., CD1a. Independientemente de la estructura, el fragmento de unión a antígeno se une con el mismo antígeno que es reconocido por la inmunoglobulina intacta. La expresión "molécula de unión" como se usa en el presente documento incluye inmunoglobulinas de clases y subclases de anticuerpos intactos. Éstas incluyen IgA, IgD, IgE, IgG, e IgM, y varias de éstas pueden además dividirse en subclases (isotipos), p. ej., IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, así como sus fragmentos de unión a antígeno.

Los fragmentos de unión a antígeno incluyen, entre otros, Fab, F(ab'), F(ab')₂, Fv, dAb, Fd, fragmentos de regiones determinantes de la complementariedad (CDR), anticuerpos monocatenarios (scFv), anticuerpos monocatenarios bivalentes, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, (poli)péptidos que contienen al menos un fragmento de una inmunoglobulina que es suficiente para conferir unión a antígeno específica, etc. Los fragmentos anteriores pueden producirse sintéticamente o mediante escisión enzimática o química de inmunoglobulinas intactas o pueden

modificarse genéticamente mediante técnicas de ADN recombinante. Los procedimientos de producción son bien conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo en *Antibodies: A Laboratory Manual*, Editado por: E. Barlow y D. Lane (1988), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, Nueva York. Una molécula de unión o uno de sus fragmentos de unión a antígeno pueden tener uno o más sitios de unión. Si hay más de un sitio de unión, los sitios de unión pueden ser idénticos entre sí o pueden ser diferentes.

La molécula de unión puede ser una molécula de unión desnuda o no conjugada. Una molécula desnuda o no conjugada pretende referirse a una molécula de unión que no está conjugada, unida de forma operativa o asociada físicamente o funcionalmente de otro modo con un marcador o resto efector, tal como, entre otros, una sustancia tóxica, una sustancia radioactiva, un liposoma, una enzima. Se entenderá que las moléculas de unión desnudas o no conjugadas no excluyen a las moléculas de unión que se han estabilizado, multimerizado, humanizado o manipulado de cualquier otra manera, distinta de mediante la unión de un marcador o resto efector. En consecuencia, están incluidas aquí todas las moléculas de unión desnudas o no conjugadas modificadas después de la traducción, incluyendo cuando las modificaciones se realizan en el entorno natural de la célula productora de molécula de unión, mediante una célula productora de molécula de unión recombinante, y son introducidas por acción del hombre tras la preparación de molécula de unión inicial. Naturalmente, la expresión molécula de unión desnuda o no conjugada incluye moléculas de unión que tienen la capacidad de formar asociaciones funcionales con células y/o moléculas efectoras tras la administración al organismo, ya que algunas de esas interacciones son necesarias con el fin de ejercer un efecto biológico.

Muestra biológica

Como se usa en el presente documento, la expresión "muestra biológica" comprende una variedad de tipos de muestra, incluyendo sangre y otras muestras líquidas de origen biológico, muestras de tejido sólido tales como especímenes de biopsia o cultivos de tejido, o células derivadas de ellas y su progenie. La expresión incluye también muestras que han sido manipuladas de cualquier modo tras su obtención, tal como mediante tratamiento con reactivos, solubilización o enriquecimiento en determinados componentes, tales como proteínas o polinucleótidos. La expresión comprende diversos tipos de muestras clínicas obtenidas a partir de cualquier especie, y también incluye células en cultivo, sobrenadantes celulares y lisados celulares.

Leucemia mieloide crónica

La expresión "leucemia mieloide crónica" como se usa en el presente documento se caracteriza por una proliferación descontrolada de células mielopoyéticas en la médula ósea y sitios extramedulares en los que el mieloblasto maligno es capaz de diferenciarse y dar lugar a mielocitos, metamielocitos, células en banda y granulocitos.

Regiones determinantes de la complementariedad (CDR)

La expresión "regiones determinantes de la complementariedad" como se usa en el presente documento significa secuencias dentro de las regiones variables de moléculas de unión, tales como inmunoglobulinas, que generan el sitio de unión a antígeno que es complementario en su forma y distribución de carga al epítipo reconocido en el antígeno. Las regiones CDR pueden ser específicas para epítopos lineales, epítopos discontinuos o epítopos conformacionales de proteínas o fragmentos de proteína, bien como se presentan en la proteína en su conformación nativa o, en algunos casos, como se presentan en las proteínas desnaturalizadas, p. ej., por solubilización en SDS. Los epítopos pueden consistir también en modificaciones postraduccionales de proteínas.

Delección

El término "delección" como se usa en el presente documento, denota un cambio en una secuencia, bien de aminoácidos o de nucleótidos, en el que uno o más residuos de aminoácido o nucleótido, respectivamente, están ausentes en comparación con la molécula progenitora, frecuentemente natural.

Secuencia de ácidos nucleicos reguladora de la expresión

La expresión "secuencia de ácidos nucleicos reguladora de la expresión" como se usa en el presente documento se refiere a secuencias de polinucleótidos necesarias para y/o que afectan a la expresión de una secuencia codificante unida de forma operable en un organismo huésped concreto. Cuando dos secuencias de ácidos nucleicos están unidas de forma operable, estarán normalmente en la misma orientación y también en el mismo marco de lectura. Normalmente serán esencialmente contiguas, a pesar de que puede que no sea necesario. Las secuencias de ácidos nucleicos reguladoras de la expresión, tales como, entre otras, secuencias de iniciación de la transcripción, terminación, promotoras, potenciadoras adecuadas; secuencias represoras o activadoras, señales de procesamiento de ARN eficaces tales como señales de ajuste y poliadenilación; secuencias que estabilizan el ARNm citoplásmico; secuencias que potencian la eficacia de la traducción (p. ej., sitios de unión a ribosomas); secuencias que potencian la estabilidad de proteínas; y, cuando se desee, secuencias que potencian la secreción de proteínas, pueden ser cualquier secuencia de ácidos nucleicos que muestre actividad en el organismo huésped elegido y pueden derivar de genes que codifican proteínas, que son, o bien homólogos o bien heterólogos para el organismo huésped.

Variante funcional

La expresión "variante funcional", como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula de unión que comprende una secuencia de nucleótidos y/o aminoácidos que está alterada en uno o más nucleótidos y/o aminoácidos en comparación con las secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos de la molécula de unión progenitora y que sigue siendo capaz de competir por la unión al compañero de unión, p. ej., CD1a, con la molécula de unión progenitora. En otras palabras, las modificaciones en la secuencia de aminoácidos y/o nucleótidos de la molécula de unión progenitora no afectan o alteran significativamente las características de unión de la molécula de unión codificada por la secuencia de nucleótidos o que contiene la secuencia de aminoácidos, es decir, la molécula de unión sigue siendo capaz de reconocer y unir su objetivo. La variante funcional puede tener modificaciones de secuencia conservadoras que incluyen sustituciones, adiciones y deleciones de nucleótidos y aminoácidos. Estas modificaciones pueden introducirse mediante técnicas estándar conocidas en la técnica, tales como mutagénesis dirigida a sitio y mutagénesis mediada por PCR aleatoria.

Las sustituciones de aminoácidos conservadoras incluyen, por ejemplo, aquellas en las que el residuo de aminoácido es reemplazado con un residuo de aminoácido que tiene propiedades estructurales o químicas similares. En la técnica se han definido familias de residuos de aminoácidos que tienen cadenas laterales similares. Estas familias incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (p. ej., lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (p. ej., ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares sin carga (p. ej., glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína, triptófano), cadenas laterales no polares (p. ej., alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina), cadenas laterales ramificadas en beta (p. ej., treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (p. ej., tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina). Además, una variante puede tener sustituciones de aminoácidos no conservadoras, p. ej., reemplazo de un aminoácido con un residuo de aminoácido que tiene propiedades estructurales o químicas diferentes. Las variaciones secundarias similares pueden incluir también deleciones o inserciones de aminoácidos, o ambas. Pueden utilizarse programas informáticos bien conocidos en la técnica como guía para determinar qué residuos de aminoácido pueden ser sustituidos, insertados o deleccionados sin eliminar la actividad inmunológica.

Una mutación en una secuencia de nucleótidos puede ser una única alteración realizada en un locus (una mutación puntual), tal como mutaciones de transición o transversión, o, alternativamente, pueden insertarse, deleccionarse o cambiarse varios nucleótidos en un único locus. Además, pueden realizarse una o más alteraciones en cualquier número de loci dentro de una secuencia de nucleótidos. Las mutaciones pueden realizarse mediante cualquier procedimiento adecuado conocido en la técnica.

Huésped

El término "huésped", como se usa en el presente documento, pretende referirse a un organismo o una célula en la que se ha introducido un vector tal como un vector de clonación o un vector de expresión. El organismo o célula puede ser procarionta o eucarionta. Debería entenderse que este término pretende referirse no sólo al organismo o célula objeto concreto, sino también a la progenie de dicho organismo o célula. Debido a que pueden producirse ciertas modificaciones en generaciones sucesivas debido, bien a mutación o bien a influencias del entorno, dicha progenie puede no ser, de hecho, idéntica al organismo o célula progenitor, pero se incluye aun así dentro del alcance del término "huésped" como se usa en el presente documento.

Humana(s)

El término "humana(s)", cuando se aplica a moléculas de unión como se definen en el presente documento, se refiere a moléculas de unión que, o bien derivan directamente de un ser humano, o bien se basan en una secuencia humana. Cuando una molécula de unión deriva de o está basada en una secuencia humana y posteriormente se modifica, sigue considerándose humana, como se usa a lo largo de la memoria descriptiva. En otras palabras, el término "humana(s)" cuando se aplica a moléculas de unión pretende incluir moléculas de unión que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana basadas en regiones variables o constantes, presentes o no en un ser humano o un linfocito humano o en una forma modificada. Por tanto, las moléculas de unión humanas pueden incluir residuos de aminoácido no codificados por secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana, comprender sustituciones y/o deleciones (p. ej., mutaciones introducidas mediante, por ejemplo, mutagénesis aleatoria o específica de sitio *in vitro* o mediante mutación somática *in vivo*). "Basado en" como se usa en el presente documento también se refiere a la situación de que una secuencia de ácidos nucleicos puede copiarse exactamente a partir de una plantilla, o con mutaciones secundarias, tal como mediante procedimientos de PCR propensa a error, o fabricarse sintéticamente haciendo coincidir la plantilla exactamente o con modificaciones secundarias. Las moléculas semisintéticas basadas en secuencias humanas también se consideran humanas como se usa en el presente documento.

Inmunoliposoma

El término "inmunoliposoma" se refiere a un liposoma que porta una molécula de unión, como se define en el presente documento, que actúa como un resto diana, permitiendo que el liposoma se una específicamente al compañero de unión de la molécula de unión. El compañero de unión puede estar presente en disolución o puede

estar unido a la superficie de una célula.

Inserción

El término "inserción", también conocido como el término "adición", denota un cambio en una secuencia de aminoácidos o de nucleótidos que da como resultado la adición de uno o más residuos de aminoácido o nucleótido, respectivamente, en comparación con la molécula progenitora, frecuentemente natural.

Molécula de unión internalizadora

La expresión "molécula de unión internalizadora" como se usa en el presente documento significa una molécula de unión como se define en el presente documento que es capaz de internalizarse dentro de las células diana a las que se une. En otras palabras, la molécula de unión es incorporada, es decir, transportada desde el exterior (superficie celular) de una célula diana al interior, p. ej., al compartimento endosómico u otro compartimento o al citoplasma de la célula, por las células diana tras la unión al compañero de unión de la molécula de unión.

Aislada(s)

El término "aislada(s)", cuando se aplica a moléculas de unión como se definen en el presente documento, se refiere a moléculas de unión que, sustancialmente, no tienen otras proteínas o polipéptidos, concretamente no tiene otras moléculas de unión que tengan especificidades antigénicas diferentes, y tampoco tienen, sustancialmente, otros compuestos químicos y/o materiales celulares. Por ejemplo, cuando las moléculas de unión se producen por recombinación, preferentemente no tienen, sustancialmente, medio de cultivo, y cuando las moléculas de unión se producen por síntesis química, preferentemente no tienen, sustancialmente, precursores químicos u otros compuestos químicos, es decir, están separadas de los precursores químicos u otros compuestos químicos que están implicados en la síntesis de la proteína. El término "aislada(s)" cuando se aplica a moléculas de ácido nucleico que codifican moléculas de unión como se definen en el presente documento, pretende referirse a moléculas de ácido nucleico en las que las secuencias de nucleótidos que codifican las moléculas de unión no tienen, sustancialmente, otras secuencias de nucleótidos, concretamente secuencias de nucleótidos que codifican moléculas de unión que unen compañeros de unión distintos de CD1a. Además, el término "aislada(s)" se refiere a moléculas de ácido nucleico que están sustancialmente separadas de otros componentes celulares que acompañan de forma natural a la molécula de ácido nucleico nativa en su huésped natural, p. ej., ribosomas, polimerasas o secuencias genómicas con las que se asocia naturalmente. Además, las moléculas de ácido nucleico "aisladas", tales como moléculas de ADNc, pueden no tener, sustancialmente, otros materiales celulares o medio de cultivo cuando se producen mediante técnicas recombinantes, o no tener, sustancialmente, precursores químicos u otros compuestos químicos cuando se sintetizan químicamente.

Histiocitosis de células de Langerhans (LCH)

La expresión "histiocitosis de células de Langerhans (LCH)" se refieren a un trastorno que se caracteriza por la proliferación localizada o generalizada de células de tipo dendrítico, semejantes a las células de Langerhans. Estas células tienen su origen en la médula ósea y normalmente están presentes principalmente en la piel. En la LCH estas células proliferan y pueden afectar o no a muchos otros órganos como, entre otros, huesos, hígado, pulmones y cerebro. La LCH es el más frecuente entre los trastornos histiocíticos. La enfermedad se produce en personas de todas las edades, pero el pico de incidencia es en niños de entre 0 y 4 años de edad. Los síntomas clínicos varían ampliamente desde erupción limitada en la piel o lesiones óseas únicas, que pueden curarse espontáneamente, hasta implicación y disfunción de órganos y vísceras extensiva, que conduce finalmente a la muerte del paciente.

Liposoma

El término "liposoma" como se usa en el presente documento se refiere a una vesícula pequeña delimitada por una capa compuesta por diversos tipos de lípidos, preferentemente lípidos anfipáticos, fosfolípidos y/o tensioactivos y fabricada artificialmente a partir de estas moléculas mediante técnicas conocidas en la técnica tales como sonicación o retirada del detergente de complejos fosfolípido-detergente. La capa es normalmente una bicapa formada por moléculas que comprenden una parte hidrófoba y una parte hidrófila, en la que las parte hidrófobas se asocian en un medio acuoso para formar una parte interna de la capa, mientras que las partes hidrófilas permanecen en contacto con el medio. La capa rodea e incluye un interior, el cual pueden contener, completamente o parcialmente, una fase acuosa, un sólido, un gel, una fase gaseosa o un fluido no acuoso. Los liposomas son útiles para la administración de una o más moléculas tales como moléculas de ácido nucleico, moléculas de unión, proteínas, sustancias tóxicas y otros materiales o compuestos a células tales como células animales mediante fusión de liposomas con la membrana plasmática, un procedimiento denominado también lipofección. Las moléculas pueden estar contenidas en el interior del liposoma, en la capa lipídica o unidas a la superficie exterior de la capa lipídica.

Anticuerpo monoclonal

La expresión "anticuerpo monoclonal" como se usa en el presente documento se refiere a un anticuerpo monoclonal que muestra una única especificidad de unión y afinidad por un epítipo concreto. En consecuencia, la expresión "anticuerpo monoclonal humano" se refiere a un anticuerpo que muestra una sola especificidad de unión que tiene

regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana o derivadas de secuencias totalmente sintéticas o semisintéticas.

Síndrome mielodisplásico

5 La expresión "síndrome mielodisplásico" como se usa en el presente documento engloba un grupo heterogéneo de trastornos hematopoyéticos clonales estrechamente relacionados que se originan en una célula formadora de sangre tempranas de la médula. Todos los trastornos se caracterizan por una médula ósea con morfología y maduración dañadas (dismielopoyesis) y citopenias de la sangre periférica, que resultan de una producción ineficaz de células sanguíneas. En otras palabras, las células sanguíneas en maduración, frecuentemente mueren en la médula antes de alcanzar la madurez total y entrar en la sangre, contribuyendo a concentraciones bajas de células sanguíneas. En 10 pacientes que padecen síndrome mielodisplásico puede darse también una acumulación de células de la médula muy inmaduras, denominadas blastocitos leucémicos.

Natural

15 El término "natural" como se usa en el presente documento aplicado a un objeto se refiere al hecho de que un objeto puede encontrarse en la naturaleza. Por ejemplo, una secuencia de polipéptidos o polinucleótidos que está presente en un organismo que puede aislarse a partir de una fuente de la naturaleza y que no ha sido modificado por el ser humano en el laboratorio, es natural.

Células neoplásicas

20 La expresión "células neoplásicas" como se usa en el presente documento se refiere a células que resultan de un nuevo crecimiento autónomo no deseado que no tiene una función fisiológica evidente. Una célula neoplásica incluye además células transformadas y células cancerosas, incluyendo cánceres sanguíneos (benignos y malignos).

Molécula de ácido nucleico

25 La expresión "molécula de ácido nucleico" como se usa en la presente invención se refiere a una forma polimérica de nucleótidos e incluye hebras, tanto sentido como antisentido, de ARN, ADNc, ADN genómico y formas sintéticas y polímeros mezclados de las anteriores. Un nucleótido se refiere a un ribonucleótido, desoxirribonucleótido o una forma modificada de cualquier tipo de nucleótido. La expresión incluye también formas monocatenarias y bicatenarias de ADN. Además, un polinucleótido puede incluir nucleótidos naturales o modificados, o ambos, unidos mediante enlaces de nucleótidos naturales y/o no naturales. Las moléculas de ácido nucleico pueden modificarse químicamente o bioquímicamente o pueden contener bases de nucleótidos no naturales o derivatizadas, como 30 apreciarán fácilmente los expertos en la técnica. Dichas modificaciones incluyen, por ejemplo, marcadores, metilación, sustitución de uno o más de los nucleótidos naturales con un análogo, modificaciones internucleótido tales como enlaces no cargados (p. ej., metilfosfonatos, fosfotriésteres, fosforamidatos, carbamatos, etc.), enlaces cargados (p. ej., fosforotioatos, fosforoditioatos, etc.), restos pendientes (p. ej., polipéptidos), intercaladores (p. ej., acridina, psoraleno, etc.), quelantes, alquiladores y enlaces modificados (p. ej., ácidos nucleicos alfa anoméricos, etc.). La expresión anterior pretende incluir también cualquier conformación topológica, incluyendo conformaciones monocatenarias, bicatenarias, en dúplex parcial, en tríplex, con forma de horquilla, circulares y cerradas. También están incluidas moléculas sintéticas que imitan a polinucleótidos en su capacidad para unirse a una secuencia designada a través de enlaces de hidrógeno y otras interacciones químicas. Tales moléculas son conocidas en la 40 técnica e incluyen, por ejemplo, aquellas en las que enlaces peptídicos sustituyen enlaces fosfato en el esqueleto de la molécula. Una referencia a una secuencia de ácidos nucleicos engloba su complemento a no ser que se especifique lo contrario. Por tanto, una referencia a una molécula de ácido nucleico que tiene una secuencia concreta debería entenderse como que engloba su hebra complementaria, con su secuencia complementaria. La hebra complementaria también es útil, p. ej., para tratamiento antisentido, sondas de hibridación y cebadores de PCR.

Enlazado de forma operable

45 La expresión "enlazado de forma operable" se refiere a dos o más elementos de secuencia de ácidos nucleicos que están físicamente enlazados y están en una relación funcional entre sí. Por ejemplo, un promotor está unido de forma operable a una secuencia codificante si el promotor es capaz de iniciar o regular la transcripción o expresión de una secuencia codificante, en cuyo caso la secuencia codificante debería entenderse como que está "bajo el control" del promotor. Generalmente, cuando dos secuencias de ácidos nucleicos están unidas de forma operable, 50 estarán en la misma orientación y normalmente también en el mismo marco de lectura. Normalmente serán esencialmente contiguas, a pesar de que puede que no sea necesario.

Excipiente farmacéuticamente aceptable

55 Por "excipiente farmacéuticamente aceptable" se quiere decir cualquier sustancia inerte que está combinada con una molécula activa, tal como un fármaco, agente o molécula de unión, para preparar una forma de dosificación adecuada o conveniente. El "excipiente farmacéuticamente aceptable" es un excipiente que no es tóxico para los

receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas y es compatible con otros ingredientes de la formulación que comprende el fármaco, agente o molécula de unión.

Que se une específicamente

5 La expresión "que se une específicamente", como se usa en el presente documento, en referencia a la interacción de una molécula de unión, p. ej., un anticuerpo, y su compañero de unión, p. ej., un antígeno, significa que la interacción depende de la presencia de una estructura concreta, p. ej., un determinante antigénico o epítipo, en el compañero de unión. En otras palabras, el anticuerpo se une o reconoce preferentemente al compañero de unión incluso cuando el compañero de unión está presente en una mezcla de otras moléculas. La unión puede estar mediada por interacciones covalentes o no covalentes o una combinación de ambas.

10 **Sustituciones**

Una "sustitución", como se usa en el presente documento, denota el reemplazo de uno o más aminoácidos o nucleótidos por diferentes aminoácidos o nucleótidos, respectivamente.

Cantidad terapéuticamente eficaz

15 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de la molécula de unión como se define en el presente documento que es eficaz para prevenir y/o tratar un trastorno o enfermedad en los que moléculas de CD1a juegan un papel o están asociadas con ellos, o mejorar una afección asociada con la enfermedad o trastorno.

Tratamiento

20 El término "tratamiento" se refiere a tratamiento terapéutico, así como a medidas profilácticas o preventivas. Aquellos que necesitan tratamiento incluyen aquellos que ya padecen la enfermedad o trastorno en los que moléculas de CD1a juegan un papel o están asociadas con ellos, así como aquellos en los que ha de evitarse la enfermedad o trastorno.

Vector

25 El término "vector" denota una molécula de ácido nucleico en la que puede insertarse una segunda molécula de ácido nucleico para la introducción en un huésped donde se duplicará y, en algunos casos, se expresará. En otras palabras, un vector es capaz de portar una segunda molécula de ácido nucleico a la cuál ha sido enlazado. El término "vector", como se usa en el presente documento, contempla tanto vectores de clonación como de expresión. Los vectores incluyen, pero no se limitan a, plásmidos, cósmidos, cromosomas artificiales bacterianos (BAC) y cromosomas artificiales de levadura (YAC) y vectores derivados de bacteriófagos o virus vegetales o animales (incluidos humanos). Los vectores comprenden un origen de replicación reconocido por el huésped propuesto y, en el caso de vectores de expresión, promotores y otras regiones reguladoras reconocidas por el huésped. Un vector que contiene una segunda molécula de ácido nucleico puede introducirse en una célula por transformación, transfección o haciendo uso de mecanismos víricos de entrada. Algunos vectores son capaces de replicación autónoma en un huésped en el que se introducen (p. ej., vectores bacterianos que tienen un origen de replicación bacteriano). Se pueden integrar otros vectores en el genoma de un huésped tras la introducción en el huésped y, de este modo, se replican junto con el genoma del huésped.

35

Sumario de la invención

40 En la presente invención se han identificado y obtenido varias moléculas de unión humanas capaces de unirse a una CD1a humana usando tecnología de presentación de fagos. Además, se han descrito procedimientos para producir estas moléculas de unión humanas y el uso de las moléculas de unión humanas en el diagnóstico, prevención y tratamiento de, entre otros, trastornos y enfermedades neoplásicos.

Descripción detallada de la invención

45 La presente invención engloba moléculas de unión humanas capaces de unirse específicamente a CD1a humanas. Las moléculas de unión también son capaces de unirse, concretamente unirse específicamente, a un fragmento de CD1a humana, comprendiendo el fragmento al menos el determinante antigénico de CD1a que es reconocido por las moléculas de unión humanas de la invención. Las moléculas de unión humanas capaces de unirse específicamente formas naturales truncadas o segregadas, formas variantes naturales (p. ej., formas de ajuste alternativo) y variantes alélicas naturales de CD1a también son parte de la presente invención. Las moléculas de unión de la invención pueden ser capaces también de unirse específicamente a análogos o variantes no naturales de CD1a siempre que las modificaciones no eliminen la unión de las moléculas de unión a las moléculas de CD1a.

50 Las moléculas de unión humanas de acuerdo con la invención pueden ser moléculas de inmunoglobulina intactas, tales como anticuerpos policlonales o monoclonales, o las moléculas de unión pueden ser fragmentos de unión a antígeno incluyendo, pero sin limitarse a, Fab, F(ab'), F(ab')₂, Fv, dAb, Fd, fragmentos de regiones determinantes de la complementariedad (CDR), anticuerpos monocatenarios (scFv), anticuerpos monocatenarios bivalentes, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos y (poli)péptidos que contienen al menos un fragmento de una inmunoglobulina

que es suficiente para conferir unión a antígeno específica a los (poli)péptidos. Las moléculas de unión humanas de la invención pueden usarse en forma no aislada o aislada. Además, las moléculas de unión humanas de la invención pueden usarse solas o en una mezcla que comprende al menos una molécula de unión humana (o una de sus variantes o fragmentos). En otras palabras, las moléculas de unión humanas pueden usarse en combinación, p. ej., como una composición farmacéutica que comprende dos o más moléculas de unión humanas o sus fragmentos. Por ejemplo, pueden combinarse moléculas de unión humanas que tenga actividades diferentes, pero complementarias, en un sólo tratamiento para lograr un efecto terapéutico o diagnóstico deseado, pero, alternativamente, también pueden combinarse moléculas de unión humanas con actividades idénticas en un sólo tratamiento para lograr un efecto terapéutico o diagnóstico deseado. La mezcla puede comprender además al menos otro agente terapéutico. Normalmente, las moléculas de unión humanas de acuerdo con la invención pueden unirse a sus compañeros de unión, es decir, CD1a humanas, con una constante de afinidad (valor de Kd) que es menor de $0,2 \cdot 10^{-4}$ M, $1,0 \cdot 10^{-5}$ M, $1,0 \cdot 10^{-6}$ M, $1,0 \cdot 10^{-7}$ M, preferentemente menor de $1,0 \cdot 10^{-8}$ M, más preferentemente menor de $1,0 \cdot 10^{-9}$ M, más preferentemente menor de $1,0 \cdot 10^{-10}$ M, incluso más preferentemente menor de $1,0 \cdot 10^{-11}$ M y, en particular, menor de $1,0 \cdot 10^{-12}$ M. Las constantes de afinidad pueden variar para isotipos de anticuerpos. Por ejemplo, la afinidad de unión por un isotipo de IgM se refiere a una afinidad de unión de al menos aproximadamente $1,0 \cdot 10^{-7}$ M. Las constantes de afinidad pueden medirse, por ejemplo, usando resonancia de plasmón superficial, es decir, un fenómeno óptico que permite el análisis de interacciones bioespecíficas en tiempo real mediante la detección de alteraciones en concentraciones proteicas dentro de una matriz de biosensores, usando por ejemplo el sistema BIAcore (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Suecia).

Las moléculas de unión humanas de acuerdo con la invención pueden unirse a CD1a humanas en forma soluble o pueden unirse a CD1a humanas enlazadas o unidas a un transportador o sustrato, p. ej., placas de microvaloración, membranas y perlas, etc. Los transportadores o sustratos pueden fabricarse de vidrio, plástico (p. ej., poliestireno), polisacáridos, nailon, nitrocelulosa o teflón, etc. La superficie de tales soportes puede ser sólida o porosa y de cualquier forma adecuada. Además, las moléculas de unión humanas pueden unirse a las CD1a humanas en una forma purificada o no purificada. Preferentemente, las moléculas de unión humanas son capaces de unirse específicamente a moléculas de CD1a humanas asociadas con células, tales como células humanas positivas para CD1a o partes de estas células que comprenden CD1a humanas o uno de sus fragmentos.

En una realización de la invención, las moléculas de unión humanas de la invención que permanecen unidas a la superficie tras unirse a CD1a humanas presentes en la superficie de células diana pueden usarse en el formato de moléculas de unión desnudas para apoyar posibles funciones efectoras de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y citotoxicidad dependiente del complemento (CDC).

ADCC se refiere a una reacción mediada por células en la que células citotóxicas no específicas que expresan receptores Fc (FcR) (p. ej., células asesinas naturales (NK), neutrófilos y macrófagos) reconocen la denominada porción Fc de moléculas de unión, mientras que estas últimas se unen a una célula diana y posteriormente provocan la lisis de la célula diana. CDC se refiere a la capacidad de una molécula para lisar una diana en presencia del complemento. La ruta de activación del complemento se inicia por la unión del Cebador componente del sistema del complemento (C1q) a una molécula de unión complejada con un antígeno afín. Para distinguir la muerte celular inducida por citotoxicidad celular/mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC) o citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), puede determinarse la muerte celular *in vitro* en ausencia de células efectoras del complemento e inmunitarias. El ensayo para evaluar la muerte celular puede realizarse, por ejemplo, usando suero inactivado por calor (es decir, en ausencia de complemento) y en ausencia de células efectoras inmunitarias. Para determinar si la molécula de unión es capaz de inducir la muerte celular, puede evaluarse la pérdida de integridad de membrana evaluada mediante captación de yoduro de propidio (PI), azul de tripano o 7AAD, con relación a células no tratadas.

Los anticuerpos desnudos de acuerdo con la invención pueden inducir también la apoptosis de células diana de otro modo que mediante ADCC o CDC. Las células diana incluyen, pero no se limitan a, células positivas para CD1a tales como células neoplásicas. Los procedimientos para medir la apoptosis son conocidos por los expertos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, análisis por FACS usando tinción con anexina V, electroforesis de ADN, captación de yoduro de propidio (PI), azul de tripano o 7AAD.

Las moléculas de unión desnudas de acuerdo con la invención también pueden usarse para inhibir o bloquear la unión de otra molécula, tal como un ligando, que se une normalmente de CD1a. De este modo, las moléculas de unión humanas podrían interferir con uno o más procesos posibles corriente abajo que son desencadenados/activados por la unión/interacción de la molécula con CD1a.

Alternativamente, tras la unión a moléculas de CD1a presentes en la superficie de células diana, las moléculas de unión humanas como se definen en el presente documento pueden internalizarse. La internalización de moléculas de unión puede ensayarse por técnicas conocidas que incluyen, pero no se limitan a, rastreo específico de moléculas de unión internalizadas capaces de unir moléculas de CD1a. Las moléculas de unión pueden marcarse con un fluorocromo y puede medirse la internalización mediante citometría de flujo o microscopía de barrido láser confocal.

En el caso de que las moléculas de unión humanas como se definen en la presente invención se internalicen

lentamente y, antes de la internalización, permanezcan unidas a las superficie de células diana durante un periodo de tiempo prolongado, pueden ser útiles, de forma similar a las moléculas de unión que no se internalizan en absoluto, en tratamientos que hacen uso de ADCC, CDC, apoptosis o tratamiento con enzimas-profármacos dirigidos por anticuerpos (ADEPT). ADCC, CDC y apoptosis se analizan anteriormente, mientras que ADEPT se analiza a continuación.

Las moléculas de unión humanas de acuerdo con la invención comprenden una cadena pesada variable que comprende la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEC ID N.º: 8 y una cadena ligera variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N.º: 20.

Se han depositado los plásmidos que comprenden ADN que codifica la cadena pesada o la cadena ligera de anticuerpos IgG1 humanos dirigidos contra CD1a humanas, llamándose dichos anticuerpos 02-113, 02-114, 02-115, 02-116, 02-117 y 02-118. Los plásmidos que comprenden ADN que codifica las cadenas pesadas de IgG1 humanas anti-CD1a se denominaron pgG102-U3C03, pgG102-114C03, pgG102-115C03, pgG102-116C03, pgG102-117C03 y pgG102-118C03 y se depositaron en la Colección Europea de Cultivos de Células (ECACC), CAMR, Salisbury, Wiltshire SP4 OJG, Gran Bretaña el 28 de octubre de 2003, bajo los números de acceso 03102801, 03102802, 03102803, 03102804, 03102805 y 03102806, respectivamente. El plásmido que comprende ADN que codifica la cadena ligera de las IgG1 humanas anti-CD1a llamadas 02-113, 02-114, 02-116, 02-117 y 02-118 se denominó pSyn-COS-Vk1 y depositó en la Colección Europea de Cultivos de Células (ECACC), CAMR, Salisbury, Wiltshire SP4 OJG, Gran Bretaña el 28 de octubre de 2003, bajo el número de acceso 03102807. El plásmido que comprende ADN que codifica la cadena ligera de la IgG1 humana anti-CD1a llamada 02-115 se denominó pSyn-C04-V13 y se depositó en la Colección Europea de Cultivos de Células (ECACC), CAMR, Salisbury, Wiltshire SP4 OJG, Gran Bretaña el 28 de octubre de 2003, bajo el número de acceso 03102808.

Otro aspecto de la invención incluye variantes funcionales de moléculas de unión o sus fragmentos como se definen en el presente documento. Las moléculas se consideran variantes funcionales de una molécula de unión de acuerdo con la invención si las variantes son capaces de competir por unirse específicamente a CD1a humanas, preferentemente compitiendo por el mismo sitio de unión en la CD1a humana, con las moléculas de unión progenitoras. En otras palabras, cuando las variantes funcionales son todavía capaces de unirse a CD1a humanas o una de sus porciones. Las variantes funcionales incluyen, pero no se limitan a, derivados que son sustancialmente similares en la secuencia estructural primaria, pero que contienen, p. ej., modificaciones *in vitro* o *in vivo*, químicas y/o bioquímicas, que no se encuentran en la molécula de unión progenitora. Tales modificaciones incluyen, entre otras, acetilación, acilación, ADP-ribosilación, amidación, anclaje covalente de flavina, anclaje covalente de un resto hemo, anclaje covalente de un nucleótido o derivado de nucleótido, anclaje covalente de un lípido o derivado de lípido, anclaje covalente de fosfatidilinositol, entrecruzamiento, ciclación, formación de puentes disulfuro, desmetilación, formación de entrecruzamientos covalentes, formación de cisteína, formación de piroglutamato, formilación, gammacarboxilación, glucosilación, formación de ancla de GPI, hidroxilación, yodación, metilación, miristoilación, oxidación, pegilación, procesamiento proteolítico, fosforilación, prenilación, racemización, selenoilación, sulfatación, adición de aminoácidos a proteínas mediada por ARN de transferencia tal como arginilación, ubiquitinación y similares.

Alternativamente, las variantes funcionales pueden ser moléculas de unión como se definen en la presente invención que comprenden una secuencia de aminoácidos que contiene sustituciones, inserciones, deleciones o sus combinaciones de uno o más aminoácidos comparadas con las secuencias de aminoácidos de las moléculas de unión progenitoras. Además, las variantes funcionales pueden comprender truncaciones de la secuencia de aminoácidos en cualquiera de los extremos amino o carboxi o en ambos. Las variantes funcionales de acuerdo con la invención pueden tener las mismas o diferentes afinidades de unión, mayores o menores, comparadas con la molécula de unión progenitora, pero siguen siendo capaces de unirse a moléculas de CD1a humanas presentes, p. ej., en una célula. Por ejemplo, las variantes funcionales de acuerdo con la invención pueden tener afinidades de unión incrementadas o reducidas por CD1a humanas comparadas con las moléculas de unión progenitoras. Preferentemente, las secuencias de aminoácidos de las regiones variables, incluyendo, pero sin limitarse a, regiones marco, regiones hipervariables, concretamente regiones las CDR3, son modificadas. Generalmente, las regiones de cadena ligera y cadena pesada comprenden tres regiones hipervariables, que comprenden tres CDR, y regiones más conservadas, las llamadas regiones marco (FR). Las regiones hipervariables comprenden residuos de aminoácido de CDR y residuos de aminoácido de bucles hipervariables. Las variantes funcionales que se pretende que estén dentro del alcance de la presente invención tienen al menos de aproximadamente el 50 % a aproximadamente el 99 %, preferentemente al menos de aproximadamente el 60 % a aproximadamente el 99 %, más preferentemente al menos de aproximadamente el 70 % a aproximadamente el 99 %, incluso más preferentemente al menos de aproximadamente el 80 % a aproximadamente el 99 %, lo más preferentemente al menos de aproximadamente el 90 % a aproximadamente el 99 %, en particular al menos de aproximadamente el 95 % a aproximadamente el 99 % y en particular al menos de aproximadamente el 97 % a aproximadamente el 99 % de homología de secuencia de aminoácidos con las moléculas de unión progenitoras como se definen en el presente documento. Pueden usarse algoritmos computacionales tales como, entre otros Gap o Bestfit, conocidos por los expertos en la técnica para alinear de forma óptima secuencias de aminoácidos que se quieren comparar y para definir residuos de aminoácidos similares o idénticos.

Las variantes funcionales pueden obtenerse alterando las moléculas de unión progenitoras o partes de ellas

mediante procedimientos de biología molecular generales conocidos en la técnica incluyendo, pero sin limitarse a, PCR propensa a error, mutagénesis dirigida por oligonucleótido y mutagénesis dirigida a sitio.

En otro aspecto más, la invención incluye inmunoconjugados, es decir, moléculas que comprenden al menos una molécula de unión humana como se define en el presente documento que comprende al menos un marcador, tal como un resto terapéutico que inhibe o evita la función de células y/o provoca la destrucción de células. También se contemplan en la presente invención mezclas de inmunoconjugados de acuerdo con la invención o mezclas de al menos un inmunoconjugado de acuerdo con la invención y otra molécula, tal como un agente terapéutico u otra molécula de unión o inmunoconjugado. En una realización adicional, los inmunoconjugados de la invención pueden comprender más de un marcador. Estos marcadores pueden ser iguales o distintos unos de otros y pueden estar unidos/conjugados de forma no covalente a las moléculas de unión. Los marcadores también pueden estar unidos/conjugados directamente con las moléculas de unión a través de enlaces covalentes, incluyendo, pero sin limitarse a, puentes disulfuro, enlaces electrostáticos, fusión recombinante y enlace conformacional. Alternativamente, los marcadores pueden estar unidos/conjugados con las moléculas de unión mediante uno o más compuestos de enlace. Las técnicas para conjugar marcadores con moléculas de unión son bien conocidas, véase, p. ej., Arnon y col., *Monoclonal Antibodies For Immunotargeting de Drugs In Cancer Therapy*, págs. 243-256 en *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy* (1985), Editado por: Reisfeld y col., A. R. Liss, Inc.; Hellstrom y col., *Antibodies For Drug Delivery*, págs. 623-653 en *Controlled Drug Delivery*, 2ª edición (1987), Editado por: Robinson y col., Marcel Dekker, Inc.; Thorpe, *Antibody Carriers de Cytotoxic Agents*, págs. 475-506 en *Cancer Therapy: A Review*, en *Monoclonal Antibodies "84 : Biological And Clinical Applications* (1985), Editado por: Pinchera y col.; Analysis, Results, And Future Prospective de The Therapeutic Use de Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy, págs. 303-316 en *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy* (1985), Editado por: Baldwin y col., Academic Press.

Los marcadores de acuerdo con la invención incluyen, pero no se limitan a, sustancias tóxicas, sustancias radioactivas, liposomas, enzimas, secuencias de polinucleótidos, plásmidos, proteínas, péptidos o sus combinaciones. Las sustancias tóxicas incluyen, pero no se limitan a, agentes citotóxicos, tales como toxinas de molécula pequeña o agentes quimioterapéuticos, o toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal o sus fragmentos. Los ejemplos de agentes citotóxicos incluyen, pero no se limitan a, agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclofosfamida; alquilsulfonatos tales como busulfano, improsulfano y pipsulfano; aziridinas tales como benzodopa, carbocuoona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas tales como alretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentioposforamida y trimetilolomelamina; mostazas nitrogenadas tales como clorambucilo, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalano, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosoureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina; antibióticos tales como aclacinomisinias, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicina, cactinomicina, caliqueamicina, carabicina, carminomicina, carcinofilina, cromoincinias, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina, epirubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicina, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicina, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, streptonigrina, streptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina; antibióticos macrólidos tales como geldanamicina y maitansina; anti-metabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo; análogos del ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiampirina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofuro, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitostanol, mepitostano, testolactona; anti-adrenales tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; restablecedor de ácido fólico tal como el ácido folínico; análogos de platino, tales como cisplatino y carboplatino; triazenos; epipodofilotoxinas; complejos de coordinación de platino; maitansinoides; y taxoides, tales como paclitaxel y doxetaxel. También se incluyen en la presente invención sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores. En general, se describen agentes quimioterapéuticos adecuados en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª edición (1990), Editado por: A.R. Gennaro, Mack Publishing Co., Filadelfia y en The Pharmacological Basis de Therapeutics de Goodman y Gilman, 7ª edición (1985), Editado por: A.G. Gilman, L.S. Goodman, T.W. Rail y F. Murad. MacMillan Publishing Co., Nueva York. Agentes terapéuticos adecuados que se encuentran aún en fase experimental son conocidos por expertos en la técnica y pueden ser usados también como sustancias tóxicas en la presente invención.

Ejemplos de toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal incluyen, pero no se limitan a, cadena A de la ricina, cadena A de la modeccina, cadena A de la abrina, cadena A de la endotoxina y exotoxina de *Pseudomonas*, toxina A de shiga, factor letal del carbunco, cadena A de la difteria, fragmentos activos de la toxina de la difteria que no se unen, enterotoxina A estafilocócica, angiogenina de la ribonucleasa humana, proteínas de *Aleurites fordii*, proteínas de diantina, proteínas de *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII y PAP-S), inhibidor de *Momordica charantia*, curcina, crotina, inhibidor de *Sapaonaria officinalis*, gelonina, mitogelina, restrictocina, fenomicina, enomicina, tricotecenas, saporina, alfa-sarcina y sus fragmentos o derivados.

Pueden producirse proteínas de fusión que comprenden toxinas enzimáticamente activas y moléculas de unión del inmunoconjugado de la invención mediante procedimientos conocidos en la técnica tales como, p. ej., por recombinación construyendo moléculas de ácido nucleico que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican las moléculas de unión humanas en un marco con secuencias de nucleótidos que codifican la toxina

enzimáticamente activa y después expresar las moléculas de ácido nucleico. Alternativamente, pueden producirse proteínas de fusión químicamente conjugando, directamente o indirectamente a través, por ejemplo, de un enlazador, moléculas de unión como se definen en el presente documento con toxinas enzimáticamente activas.

5 Los inmunoconjugados que comprenden enzimas pueden ser útiles en tratamiento con enzimas-profármacos dirigidos por anticuerpos (ADEPT). En esta técnica las enzimas se conjugan con moléculas de unión. Esta conjugación convierte a las enzimas en profármacos inactivos. Los conjugados de molécula de unión-enzima se administran entonces y se unen al compañero de unión de la molécula de unión. Tras la eliminación de los conjugados de la circulación, se administran los profármacos, que se convierten en fármacos activos por la enzima de los conjugados. Entonces se producirá la captación pasiva de los fármacos activos en las células diana.

10 También se contemplan dentro de la presente invención moléculas de unión del inmunoconjugado de la invención que están marcadas con radionúclidos. Los radionúclidos adecuados incluyen, pero no se limitan a, radionúclidos que emiten radiación alfa, tales como, entre otros, $^{212}\text{bismuto}$, $^{213}\text{bismuto}$ y $^{211}\text{astatina}$; radionúclidos que emiten radiación beta, tales como, entre otros, $^{131}\text{yodo}$, $^{90}\text{itrio}$, $^{186}\text{rodio}$ y $^{188}\text{rodio}$; y radionúclidos que emiten radiación gamma, tales como, entre otros, $^{131}\text{yodo}$, $^{186}\text{rodio}$ y $^{188}\text{rodio}$. Los radionúclidos adecuados incluyen además, pero no se limitan a, radionúclidos que emiten electrones Auger, tales como, entre otros, $^{123}\text{yodo}$, $^{124}\text{yodo}$, $^{125}\text{yodo}$, $^{129}\text{yodo}$, $^{131}\text{yodo}$, $^{111}\text{indio}$, $^{77}\text{bromo}$ y otros halógenos radiomarcados. El experto apreciará que también pueden identificarse otros radionúclidos adecuados como adecuados en la presente invención. La elección de radionúclido dependerá de muchos factores, tales como, p. ej., el tipo de enfermedad que se va a tratar, la etapa de la enfermedad que se va a tratar, el paciente que se va a tratar y similares. Las moléculas de unión pueden unirse a radionúclidos directamente o indirectamente a través de un agente quelante mediante procedimientos bien conocidos en la técnica.

En otra realización, las moléculas de unión del inmunoconjugado de la invención pueden conjugarse con liposomas para producir los denominados inmunoliposomas. Un liposoma puede conjugarse con una o más moléculas de unión, siendo las moléculas de unión iguales o diferentes. Existen diversidad de procedimientos disponibles para preparar liposomas. Estos procedimientos son bien conocidos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, sonicación, extrusión, alta presión/homogeneización, microfluidización, diálisis de detergente, fusión de vesículas liposomales pequeñas inducida por calcio y procedimientos de infusión en éter. Los liposomas pueden ser vesículas multilamelares, pero preferentemente los liposomas son vesículas unilamelares tales como vesículas unilamelares pequeñas (200 - 500 Å) o unilamelares grandes (500 - 5000 Å). Tras la preparación, los liposomas que no han sido dimensionados durante la formación pueden dimensionarse mediante procedimientos conocidos en la técnica para lograr un intervalo de tamaños deseado y una distribución relativamente estrecha de tamaños de liposomas. Los procedimientos de carga de fármacos en liposomas son bien conocidos por los expertos en la técnica. Los procedimientos más comunes incluyen la técnica de encapsulación y el procedimiento de carga por potencial transmembrana. En la técnica de encapsulación, los componentes de fármacos y liposomas se disuelven en un disolvente o mezcla de disolventes orgánicos en el que todas las especies sean miscibles y después se concentran para dar una película seca. Después se añade un tampón a la película seca y se forman los liposomas con los fármacos incorporados en las paredes de la vesícula. Este procedimiento se ha descrito con detalle en las patentes de EE. UU. N.º 4.885.172, 5.059.421 y 5.171.578. El procedimiento de carga por potencial transmembrana se ha descrito con detalle en las patentes de EE. UU. N.º 4.885.172, 5.059.421, 5.171.578, 5.316.771 y 5.380.531. Como se entenderá, las técnicas de carga no se limitan a estas dos técnicas de carga generales.

40 Los fármacos que pueden cargarse en liposomas incluyen, pero no se limitan a, las sustancias tóxicas mencionadas anteriormente. Los liposomas que han cargado fármacos diferentes y liposomas diferentes, habiendo cargado cada liposoma un tipo de fármaco, pueden ser realizaciones alternativas de liposomas que pueden usarse y estas realizaciones se contemplan también, por lo tanto, en la presente invención. Las moléculas de unión humanas de la invención pueden unirse a la superficie de los liposomas o al extremo de polímeros tales como polietilenglicol que se insertan en la superficie de los liposomas usando técnicas de acoplamiento químico convencionales. Una ventaja de los inmunoliposomas es la capacidad para administrar varias decenas de miles de moléculas de fármaco con unas pocas decenas de moléculas de unión por liposoma, dando como resultado proporciones elevadas de fármaco-molécula de unión. Tras la unión de los inmunoliposomas a las células diana el fármaco puede, en el caso de moléculas de unión que se internalizan lentamente o no se internalizan en absoluto, liberarse gradualmente desde los inmunoliposomas y ser captado por las células como fármaco libre usando mecanismos de captación estándar o, en el caso de moléculas de unión que se internalizan rápidamente, los inmunoliposomas mismos son captados por las células diana por endocitosis mediada por receptor y los fármacos se liberan gradualmente dentro de las células.

En otra realización más, las moléculas de unión humanas de la invención pueden estar enlazadas a polímeros biodegradables solubles en agua, tales como, por ejemplo, polímeros de hidroxipropilmetacrilamina (HPMA). Los polímeros tienen sustancias tóxicas enlazadas en sitios separados de los polímeros con el uso de espaciadores degradables apropiados para permitir la liberación de las sustancias tóxicas. Los polímeros descritos anteriormente también se denominan inmunopolímeros.

En otro aspecto, las moléculas de unión humanas de la invención pueden conjugarse/unirse con uno o más antígenos. Preferentemente, estos antígenos son antígenos que son reconocidos por el sistema inmunitario de un sujeto al cual se le administra el conjugado de molécula de unión-antígeno. Los antígenos pueden ser idénticos pero también pueden ser diferentes. Los procedimientos de conjugación para unir los antígenos y las moléculas de unión

son bien conocidos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, el uso de agentes de entrecruzamiento. Las moléculas de unión humanas se unirán a las células que comprende CD1a humanas y los antígenos unidos a las moléculas de unión iniciarán un ataque de linfocitos T potente sobre el conjugado, que conducirá en última instancia a la destrucción de la célula.

5 Alternativamente, las moléculas de unión humanas como se describen en la presente invención pueden conjugarse con marcadores y usarse para fines de detección y/o analíticos y/o diagnósticos. Los marcadores usados para marcar las moléculas de unión para esos fines dependen de las técnicas y/o los procedimientos de detección/análisis/diagnóstico específicos usados, tales como, entre otros, tinción inmunohistoquímica de muestras de tejido, detección por citometría de flujo, detección por citometría de barrido láser, inmunoensayos de fluorescencia, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), radioinmunoensayos (RIA), bioensayos (p. ej., ensayos de inhibición del crecimiento), aplicaciones de transferencia de bandas western, etc. Para la tinción inmunohistoquímica de muestras de tejido los marcadores preferidos son enzimas que catalizan la producción y el depósito local de un producto detectable. Las enzimas conjugadas normalmente con moléculas de unión para permitir su visualización inmunohistoquímica son bien conocidas e incluyen, pero no se limitan a, fosfatasa alcalina, P-galactosidasa, glucosa oxidasa, peroxidasa de rábano y ureasa. Los sustratos típicos para la producción y depósito de productos visualmente detectables incluyen, pero no se limitan a, o-nitrofenil-beta-D-galactopiranosido (ONPG), diclorhidrato de o-fenilenediamina (OPD), p-nitrofenil fosfato (PNPP), p-nitrofenil-beta-D-galactopiranosido (PNPG), 3',3'-diaminobencidina (DAB), 3-amino-9-etilcarbazol (AEC), 4-cloro-1-naftol (CN), 5-bromo-4-cloro-3-indolilfosfato (BCIP), ABTS, BluoGal, yodonitrotetrazolio (INT), cloruro de nitroazul de tetrazolio (NBT), metosulfato de fenazina (PMS), monofosfato de fenoltaleína (PMP), tetrametil bencidina (TMB), tetranitroazul de tetrazolio (TNBT), X-Gal, X-Gluc, y X-glucósido. Otros sustratos que pueden usarse para producir productos para depósito local son sustratos luminiscentes. Por ejemplo, en presencia de peróxido de hidrógeno, la peroxidasa de rábano puede catalizar la oxidación de diacilhidrazidas cíclicas tales como el luminol. Además de eso, las moléculas de unión del inmunoconjugado de la invención también pueden marcarse usando oro coloidal o pueden marcarse con radioisótopos, tales como ³³P, ³²P, ³⁵S, ³H y ¹²⁵I. Cuando las moléculas de unión de la presente invención se usan para detecciones por citometría de flujo, detecciones por citometría de barrido láser o inmunoensayos de fluorescencia, pueden marcarse de forma útil con fluoróforos. Una amplia variedad de fluoróforos útiles para marcaje fluorescente de las moléculas de unión de la presente invención incluye, pero no se limita a, tintes Alexa Fluor y Alexa Fluor&commat, tintes BODIPY, Cascade Blue, Cascade Yellow, dansilo, lisamina rodamina B, Marina Blue, Oregon Green 488, Oregon Green 514, Pacific Blue, rodamina 6G, verde rodamina, rojo rodamina, tetrametilrodamina, Cy2, Cy3, Cy3.5, Cy5, Cy5.5, Cy7, isotiocianato de fluoresceína (FITC), alofocianina (APC), R-ficoeritrina (PE), proteína clorofila peridina (PerCP), Texas Red, fluoróforos de energía de resonancia fluorescente en tándem PerCP-Cy5.5, PE-Cy5, PE-Cy5.5, PE-Cy7, Texas Red-PE, y APC-Cy7. Cuando las moléculas de unión de la presente invención se usan para detección secundaria usando avidina, estreptavidina, captavidina o neutravidina marcadas, las moléculas de unión pueden marcarse con biotina.

Además de eso, las moléculas de unión humanas de la invención pueden conjugarse con tintes o agentes fotoactivos tales como cromógenos fluorescentes y otros o tintes para usar los inmunoconjugados obtenido de este modo en fotorradiación, fototerapia o terapia fotodinámica. Los tintes o agentes fotoactivos incluyen, pero no se limitan a, photofrin.RTM, diporfirinas y diclorinas sintéticas, ftalocianinas con o sin sustituyentes metálicos, ftalocianina de cloroaluminio con o sin sustituyentes variables, tetrafenil porfirinas O-sustituidas, 3,1-meso tetrakis (o-propionamido fenil) porfirina, verdinas, purpurinas, derivados de estaño y cinc de octetilpurpurina, etiopurpurina, hidroporfirinas, bacterioclorinas de la serie tetra(hidroxifenil) porfirina, clorinas, clorina e₆, derivado mono-1-aspartilo de clorina e₆, derivado di-1-aspartilo de clorina e₆, clorina e₆ de estaño (IV), meta-tetrahidroxifenilclorina, derivados de benzoporfirina, derivados monoácidos de benzoporfirina, aductos de tetracianoetileno de benzoporfirina, aductos de acetilendicarboxilato de dimetilo de benzoporfirina, aductos de Diels-Alder, anillo monoácido derivado "a" de benzoporfirina, PC de aluminio sulfonado, AlPc sulfonada, disulfonado, derivado tetrasulfonado, naftalocianinas de aluminio sulfonadas, naftalocianinas con o sin sustituyentes metálicos y con o sin sustituyentes variables, antracenodionas, antrapirazoles, aminoantraquinona, tintes de fenoxazina, derivados de fenotiazina, tintes de calcogenopirilio, derivados catiónicos de seleno y telurapirilio, PC catiónica sustituida en el anillo, derivado de feoforbida, porfirinas naturales, hematoporfirina, protoporfirina IX inducida por ALA, precursores metabólicos endógenos, benzonaftoporfirinas del ácido 5-aminolevulínico, sales de iminio catiónicas, tetraciclina, texafirina de luteo, etio-purpurina de estaño, porfíricos, benzofenotiazinio y sus combinaciones.

Cuando los inmunoconjugados de la invención se usan para uso diagnóstico *in vivo*, las moléculas de unión humanas también pueden hacerse detectables por conjugación con, p. ej., agentes de contraste para técnicas de imagen por resonancia magnética (MRI), tales como ácido dietilentriaminopentaacético de gadolinio, con agentes de contraste para ultrasonidos o con agentes de contraste para rayos X, o mediante marcaje radioisotópico.

Además, las moléculas de unión humanas o los inmunoconjugados de la invención también pueden unirse a soportes sólidos, que son especialmente útiles para inmunoensayos o purificación del compañero de unión. Tales soportes sólidos pueden ser porosos o no porosos, planos o no planos e incluyen, pero no se limitan a, soportes de vidrio, celulosa, poliacrilamida, nailon, poliestireno, cloruro de polivinilo o polipropileno. Las moléculas de unión también pueden, por ejemplo, conjugarse de forma útil con medios de filtración, tales como sefarsa activada con NHS o sefarsa activada con CNBr con fines de de cromatografía de inmunoafinidad. También pueden unirse de forma útil a microesferas paramagnéticas, normalmente mediante interacción biotina-estreptavidina. Las

microesferas pueden usarse para aislar células que expresan o presenta CD1a humanas o sus fragmentos. Como otro ejemplo, las moléculas de unión humanas de la presente invención pueden unirse de forma útil a la superficie de una placa de microvaloración para ELISA.

5 Otro aspecto de la presente invención se ocupa de moléculas de ácido nucleico como se definen en el presente documento que codifican moléculas de unión humanas de la presente invención. En otro aspecto más, la invención proporciona moléculas de ácido nucleico que codifican al menos las moléculas de unión humanas que se unen específicamente a CD1a humanas. En una realización preferida, las moléculas de ácido nucleico se aíslan o purifican.

10 El experto apreciará que se pretende que las variantes funcionales de estas moléculas de ácido nucleico también sean parte de la presente invención. Las variantes funcionales son secuencias de ácidos nucleicos que pueden traducirse directamente, usando el código genético estándar, para proporcionar una secuencia de aminoácidos idéntica a la traducida a partir de las moléculas de ácido nucleico progenitoras.

15 Preferentemente, las moléculas de ácido nucleico codifican moléculas de unión que comprenden una cadena pesada variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N.º: 8 y una cadena ligera variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N.º: 20.

En una realización específica de la invención las moléculas de ácido nucleico que codifican las moléculas de unión de la invención comprenden una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en la SEC ID N.º: 7, la SEC ID N.º: 9, la SEC ID N.º: 11, la SEC ID N.º: 13, la SEC ID N.º: 15 y la SEC ID N.º: 17.

20 En una realización específica de la presente invención, las moléculas de ácido nucleico que codifican las moléculas de unión de la invención comprenden las secuencia de nucleótidos de la SEC ID N.º: 7 y la SEC ID N.º: 19.

Es otro aspecto de la invención proporcionar vectores, es decir, construcciones de ácidos nucleicos, que comprenden una o más moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención. Los vectores pueden derivar de plásmidos tales como, entre otros, F, R1, RP1, Col, pBR322, TOL, Ti, etc; cósmidos; fagos tales como lambda, lambdaoide, M13, Mu, P1, P22, Q_β, T-par, T-impar, T2, T4, T7, etc; virus vegetales tales como, entre otros, virus del mosaico de la alfalfa, bromovirus, capilovirus, carlavirus, carmovirus, caulivirus, clostervirus, comovirus, criptovirus, cucumovirus, diantovirus, fabavirus, fijivirus, furoxivirus, geminivirus, hordeivirus, ilarvirus, luteovirus, maclovirus, marafivirus, necrovirus, nepovirus, fitorepivirus, rabdovirus vegetal, potexvirus, potivirus, sobemovirus, tenuivirus, tobamovirus, tobravirus, virus del bronceado del tomate, tombusvirus, timovirus, etc; o virus animales tales como, entre otros, adenovirus, arenovirus, baculovirus, birnavirus, bunyavirus, calcivirus, cardiavirus, coronavirus, corticovirus, cistovirus, virus de Epstein-Barr, enterovirus, filovirus, flavivirus, virus de la glosopeda, hepaADNvirus, virus de hepatitis, herpesvirus, virus de inmunodeficiencia, virus de la gripe, inovirus, iridovirus, ortomixovirus, papovavirus, paramixovirus, parvovirus, picornavirus, poliovirus, poliADNvirus, poxvirus, reovirus, retrovirus, rabdovirus, rinovirus, virus del bosque de Semliki, tetravirus, togavirus, torovirus, virus vaccinia, virus de la estomatitis vesicular, etc. Pueden usarse vectores para la clonación y/o la expresión de las moléculas de unión de la invención y pueden usarse incluso para fines de tratamiento génico. Los vectores que comprenden una o más moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la invención unidas de forma operable a una o más moléculas de ácido nucleico reguladoras de la expresión también están cubiertas por la presente invención. La elección del vector depende de los procedimientos de recombinación seguidos y del huésped usado. La introducción de vectores en células huésped puede efectuarse, entre otros, por transfección con fosfato de calcio, infección vírica, transfección mediada por DEAE-dextrano, transfección con lipofectamina o electroporación. Los vectores pueden duplicarse de forma autónoma o pueden duplicarse junto con el cromosoma en el que se han integrado. Preferentemente, los vectores contienen uno o más marcadores de selección. Como es bien sabido por los expertos en la técnica, la elección de los marcadores puede depender de las células huésped elegidas, aunque esto no es crítico para la invención. Incluyen, pero no se limitan a, kanamicina, neomicina, puromicina, higromicina, zeocina, gen de la timidina cinasa del virus Herpes simplex (HSV-TK), el gen de la hidrofolato reductasa de ratón (dhfr). Los vectores que comprenden una o más moléculas de ácido nucleico que codifican las moléculas de unión como se describen anteriormente unidas de forma operable a una o más moléculas de ácido nucleico que codifican proteínas o péptidos que pueden usarse para aislar las moléculas de unión también están cubiertas por la invención. Estas proteínas o péptidos incluyen, pero no se limitan a, glutatión-S-transferasa, proteínas de unión a maltosa, polihistidina de unión a metales, proteína verde fluorescente, luciferasa y beta-galactosidasa.

Los huéspedes que contienen una o más copias de los vectores mencionados anteriormente son un objeto adicional de la presente invención. Preferentemente, los huéspedes son células huésped. Las células huésped incluyen, pero no se limitan a, células de origen mamífero, vegetal, de insectos, fúngico o bacteriano. Las células bacterianas incluyen, pero no se limitan a, células de bacterias grampositivas tales como varias especies de los géneros *Bacillus*, *Streptomyces* y *Staphylococcus* o células de bacterias gramnegativas tales como varias especies de los géneros *Escherichia* y *Pseudomonas*. En el grupo de células fúngicas se usan preferentemente células de levadura. La expresión en levadura puede lograrse usando cepas de levadura tales como, entre otras, *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Hansenula polymorpha*. Además, pueden usarse células de insectos tales como células de *Drosophila* y Sf9 como células huésped. Además, las células huésped pueden ser células vegetales tales como,

entre otras, células de plantas de cultivo tales como plantas de silvicultura, o células de plantas que proporcionan alimento y materias primas tales como plantas de cereales o plantas medicinales, o células de plantas ornamentales o células de cultivo de bulbos de flores. Las plantas o células de plantas transformadas (transgénicas) se producen por procedimientos conocidos, por ejemplo, transferencia génica mediada por *Agrobacterium*, transformación de discos de hoja, transformación de protoplastos por transferencia de ADN inducida por polietilenglicol, electroporación, sonicación, microinyección o transferencia génica biolística. Adicionalmente, un sistema de expresión adecuado puede ser un sistema de baculovirus. En la presente invención se prefieren sistemas de expresión que utilizan células de mamíferos tales como células de ovario de hámster chino (CHO), células COS, células BHK o células de melanoma de Bowes. Las células de mamíferos proporcionan proteínas expresadas con modificaciones postraduccionales que son lo más similares a moléculas naturales de origen mamífero. Dado que la presente invención se ocupa de moléculas que pueden tener que administrarse a seres humanos, un sistema de expresión completamente humano sería especialmente preferido. Por lo tanto, incluso más preferentemente, las células huésped son células humanas. Los ejemplos de células humanas son, entre otros, células HeLa, 911, AT1080, A549, 293 y HEK293T. Las células de mamíferos preferidas son retinoblastos embrionarios humanos tales como células 911 o la línea celular depositada en la Colección Europea de Cultivos de Células (ECACC), CAMR, Salisbury, Wiltshire SP4 OJG, Gran Bretaña, el 29 de febrero de 1996 bajo el número 96022940 y comercializada bajo la marca comercial PER.C6TM (PER.C6 es una marca pendiente de Crucell Holland B.V.). En realizaciones preferidas, las células productoras humanas comprenden al menos una parte funcional de una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una región E1 de adenovirus en formato expresable. En realizaciones incluso más preferidas, dichas células huésped derivan de una retina humana y se immortalizan con ácidos nucleicos que comprenden secuencias E1 adenovíricas, tales como la línea celular depositada en la Colección Europea de Cultivos de Células (ECACC), CAMR, Salisbury, Wiltshire SP4 OJG, Gran Bretaña, el 29 de febrero de 1996 bajo el número 96022940 y comercializada bajo la marca comercial PER.C6TM, y sus derivados. La producción de proteínas recombinantes en células huésped pueden realizarse de acuerdo con procedimientos bien conocidos en la técnica. El uso de las células comercializadas bajo la marca comercial PER.C6TM como plataforma de producción para proteínas de interés se ha descrito en el documento WO 00/63403.

En otra realización más, las moléculas de unión humanas de la presente invención también pueden producirse en mamíferos transgénicos no humanos tales como, entre otros, conejos, cabras o vacas, y ser segregadas, por ejemplo, en su leche.

Es otro aspecto de la invención proporcionar un procedimiento de producción de moléculas de unión humanas o sus variantes funcionales de acuerdo con la presente invención. El procedimiento comprende las etapas de a) cultivar un huésped como se describe en la presente invención bajo condiciones que conduzcan a la expresión de las moléculas de unión humanas y, opcionalmente, b) recuperar las moléculas de unión humanas expresadas. Las moléculas de unión humanas expresadas pueden recuperarse del extracto sin células, pero preferentemente se recuperan del medio de cultivo. Los procedimientos para recuperar proteínas, tales como moléculas de unión, de extractos sin células o medio de cultivo son bien conocidos por el experto en la técnica. Las moléculas de unión humanas que pueden obtenerse mediante el procedimiento descrito anteriormente también son parte de la presente invención.

Alternativamente, además de la expresión en huéspedes, tales como células huésped, las moléculas de unión humanas de la invención pueden producirse sintéticamente mediante sintetizadores de péptidos convencionales o en sistemas de traducción sin células usando ARN derivados de moléculas de ADN de acuerdo con la invención. Las moléculas de unión humanas que pueden obtenerse mediante los procedimientos sintéticos de producción o sistemas de traducción sin células descritos anteriormente también son parte de la presente invención.

En otra realización alternativa más, las moléculas de unión humanas de acuerdo con la presente invención pueden ser generadas por mamíferos transgénicos no humanos, tales como, por ejemplo, ratones o conejos transgénicos, que expresan genes de inmunoglobulinas humanas. Preferentemente, los mamíferos transgénicos no humanos tienen un genoma que comprende un transgén de cadena pesada humana y un transgén de cadena ligera humana que codifican la totalidad o parte de las moléculas de unión humanas como se describen anteriormente. Los mamíferos transgénicos no humanos pueden inmunizarse con una preparación purificada o enriquecida de CD1a humanas o uno de sus fragmentos y/o células que expresan moléculas CD1a humanas. Los protocolos para inmunizar mamíferos no humanos están bien establecidos en la técnica. Véase *Using Antibodies; A Laboratory Manual*, Editado por: E. Harlow, D. Lane (1998), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, Nueva York y *Current Protocols in immunology*. Editado por: J.B. Coligan, A.M. Kruisbeek, D.H. Margulies, E.M. Shevach, W. Strober (2001), John Wiley & Sons Inc., Nueva York.

Los protocolos de inmunización incluyen frecuentemente inmunizaciones múltiples, con o sin adyuvantes tales como el adyuvante completo de Freund y el adyuvante incompleto de Freund, pero también pueden incluir inmunizaciones con ADN desnudo. En otra realización, las moléculas de unión humanas son producidas por linfocitos B o células plasmáticas derivadas de los animales transgénicos. En otra realización más, las moléculas de unión humanas son producidas por hibridomas que se preparan por fusión de linfocitos B obtenidos a partir de los mamíferos transgénicos no humanos descritos anteriormente con células inmortalizadas. Los linfocitos B, células plasmáticas e hibridomas que se pueden obtener a partir de los mamíferos transgénicos no humanos descritos anteriormente y las moléculas de unión humanas que se pueden obtener a partir de los mamíferos transgénicos no humanos, linfocitos

B, células plasmáticas e hibridomas descritos anteriormente, también son parte de la presente invención.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un procedimiento para identificar moléculas de unión humanas de acuerdo con la invención o moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la invención y comprende las etapas de a) poner en contacto una colección de fagos de moléculas de unión humanas con material que comprende CD1a humanas o una parte de ellas, b) seleccionar al menos una vez un fago unido al material que comprende CD1a humanas o una parte de ellas y c) separar y recuperar el fago unido al material que comprende CD1a humanas o una parte de ellas. El material que comprende CD1a humanas puede ser, p. ej., células transfectadas con plásmidos de expresión de CD1a humanas, CD1a humanas aisladas, la parte extracelular de CD1a humanas, proteínas de fusión que comprenden CD1a humanas o una parte de ellas y similares. Los procedimientos de presentación de fagos para identificar y obtener moléculas de unión, p. ej., anticuerpos, son actualmente procedimientos bien establecidos conocidos por el experto en la técnica. Se describen, p. ej., en la patente de EE. UU. N.º 5.696.108; Burton y Barbas (1994); y de Kruif y col. (1995b). Para la construcción de colecciones de presentación de fagos, se expresan colecciones de genes de regiones variables de cadenas pesadas y ligeras de anticuerpos monoclonales humanos en la superficie de partículas de bacteriófagos, preferentemente bacteriófagos filamentosos, por ejemplo, en Fv monocatenario (scFv) o en formato Fab (de Kruif y col., 1995b). Las colecciones grandes de fagos que expresan fragmentos de anticuerpos contienen normalmente más de $1,0 \times 10^9$ especificidades de anticuerpo y pueden ensamblarse a partir de las regiones V de las inmunoglobulinas expresadas en linfocitos B de individuos inmunizados o no inmunizados. Alternativamente, las colecciones de presentación de fagos pueden construirse a partir de regiones variables de inmunoglobulinas que se han ensamblado parcialmente *in vitro* para introducir diversidad adicional de anticuerpos en la colección (colecciones semisintéticas). Por ejemplo, las regiones variables ensambladas *in vitro* contienen bandas de ADN producido sintéticamente, distribuido aleatoriamente o parcialmente aleatoriamente en aquellas regiones de las moléculas que son importantes para la especificidad de los anticuerpos, p. ej., las regiones CDR. Los anticuerpos en fagos específicos de antígeno pueden seleccionarse a partir de la colección inmovilizando antígenos diana tales como moléculas CD1a humanas o sus fragmentos sobre una fase sólida y exponiendo posteriormente los antígenos diana a una colección de fagos para permitir la unión de fagos que expresan fragmentos de anticuerpos específicos para el antígeno unido a la fase sólida. Los fagos no unidos se retiran por lavado y los fagos unidos se eluyen de la fase sólida para la infección de bacterias de *Escherichia coli* (*E. coli*) y su subsiguiente propagación. Normalmente se requieren varias series de selección y propagación para enriquecer lo suficiente en fagos que se unen específicamente al antígeno diana. Los fagos también pueden seleccionarse por su unión a antígenos complejos tales como mezclas complejas de proteínas o células completas tales como células transfectadas con plásmidos de expresión de CD1a humanas o células que expresan CD1a humanas de forma natural. La selección de anticuerpos en células completas tiene la ventaja de que los antígenos diana se presentan en su configuración nativa, es decir, sin alteraciones por posibles cambios conformacionales que podrían haber sido introducidos en el caso en el que un antígeno se inmoviliza en una fase sólida. Los anticuerpos en fagos específicos de antígeno pueden seleccionarse a partir de la colección incubando una población celular de interés, expresando antígenos conocidos y desconocidos sobre su superficie, con la colección de anticuerpos en fagos dejando, por ejemplo, que la parte scFv o Fab del fago se una a los antígenos de la superficie celular. Tras la incubación y varios lavados para retirar los fagos no unidos y unidos débilmente, las células de interés se tiñen con anticuerpos marcados fluorescentes específicos y se separan en un clasificador de célula activadas por fluorescencia (FACS). Los fagos que se han unido con sus partes scFv o Fab a estas células se eluyen y se usan para infectar *Escherichia coli* para permitir la amplificación de la nueva especificidad. Generalmente, se requieren una o más series de selección para separar los fagos de interés del gran exceso de fagos que no se unen. Pueden analizarse los patrones de tinción específicos de las preparaciones de fagos monoclonales, permitiendo la identificación del antígeno que se está reconociendo (de Kruif y col., 1995a). El procedimiento de presentación de fagos puede extenderse y mejorarse eliminando elementos de unión no pertinentes durante el cribado mediante la adición de un exceso de moléculas que no son diana similares, pero no idénticas, a la diana, y potenciar considerablemente de este modo la probabilidad de encontrar moléculas de unión pertinentes (Este procedimiento se denomina el procedimiento Masbstract™. Mabstrat™ es una solilidad de marca comercial pendiente de Crucell Holland B.V., véase también la patente de EE. UU. número 6.265.150). Alternativamente, pueden realizarse una o más etapas de eliminación antes o después del cribado.

En otro aspecto más, la invención proporciona un procedimiento de obtención de una molécula de unión humana o una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la invención, en el que el procedimiento comprende las etapas de a) realizar el procedimiento de identificación de moléculas de unión humanas de acuerdo con la invención o moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la invención descrito anteriormente y b) aislar a partir del fago recuperado la molécula de unión humana o el ácido nucleico que codifica la molécula de unión humana. Una vez que se ha determinado o identificado un nuevo anticuerpo monoclonal en fago con el procedimiento de identificación de moléculas de unión humanas o moléculas de ácido nucleico que codifican las moléculas de unión humanas descrito anteriormente, el ADN que codifica el scFv o Fab puede aislarse a partir de las bacterias o fagos y combinarse con técnicas estándar de biología molecular para fabricar construcciones que codifican scFv bivalentes o inmunoglobulinas humanas completas de una especificidad deseada (p. ej., IgG, IgA o IgM). Estas construcciones pueden transfectarse en líneas celulares adecuadas y pueden producirse anticuerpos monoclonales humanos completos (Huls y col., 1999; Boel y col., 2000).

En otro aspecto, la invención proporciona composiciones que comprenden al menos una molécula de unión humana,

al menos uno de sus fragmentos o variantes funcionales, al menos un inmunocombinado de acuerdo con la invención o una de sus combinaciones. Además de eso, las composiciones pueden comprender, entre otras, moléculas estabilizantes, tales como albúmina o polietilenglicol o sales. Preferentemente, las sales usadas son sales que mantienen la actividad biológica deseada de las moléculas de unión humanas y no imparten ningún efecto toxicológico indeseado. Los ejemplos de dichas sales incluyen, pero no se limitan a, sales de adición ácida y sales de adición básica. Las sales de adición ácida incluyen, pero no se limitan a, aquellas derivadas de ácidos inorgánicos no tóxicos, tales como clorhídrico, nítrico, fosfórico, sulfúrico, bromhídrico, yodhídrico, fosforoso y similares, así como a partir de ácidos orgánicos no tóxicos tales como ácidos alifáticos mono y dicarboxílicos, ácidos alcanóicos fenilsustituídos, ácidos hidroxialcanóicos, ácidos aromáticos, ácidos sulfónicos alifáticos y aromáticos y similares. Las sales de adición básica incluyen, pero no se limitan a, aquellas derivadas de metales alcalinotérreos, tales como sodio, potasio, magnesio, calcio y similares, así como de aminas orgánicas no tóxicas, tales como N,N'-dibenciletildiamina, N-metilglucamina, cloroprocaina, colina, dietanolamina, etilendiamina, procaina y similares. Si es necesario, las moléculas de unión de la invención pueden recubrirse de o con un material para protegerlas de la acción de ácidos u otras condiciones naturales o no naturales que pueden inactivar las moléculas de unión humanas.

En otro aspecto más, la invención proporciona composiciones que comprenden al menos una molécula de ácido nucleico como se definen en la presente invención. Las composiciones pueden comprender soluciones acuosas tales como soluciones acuosas que contienen sales (p. ej., NaCl o sales como se describen anteriormente), detergentes (p. ej., SDS) y/u otros componentes adecuados.

Además, la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden al menos una molécula de unión humana de acuerdo con la invención, al menos uno de sus fragmentos o variantes funcionales, al menos un inmunocombinado de acuerdo con la invención, al menos una composición de acuerdo con la invención o sus combinaciones. La composición farmacéutica de la invención comprende además al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Una composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede comprender además al menos otro agente terapéutico, profiláctico y/o de diagnóstico.

Normalmente, las composiciones farmacéuticas deben ser estériles y estables bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento. Las moléculas de unión humanas, sus variantes o fragmentos, inmunocombinados, moléculas de ácido nucleico o composiciones de la presente invención pueden estar en forma de polvo para su reconstitución en el excipiente farmacéuticamente aceptable apropiado antes o en el momento de la administración. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los procedimientos de preparación preferidos son secado a vacío y secado por congelación (liofilización) que proporcionan un polvo del principio activo más un ingrediente adicional deseado a partir de una de sus soluciones previamente filtrada de forma estéril.

Alternativamente, las moléculas de unión humanas, sus variantes o fragmentos, inmunocombinados, moléculas de ácido nucleico o composiciones de la presente invención pueden estar en disolución y el excipiente farmacéuticamente aceptable puede añadirse y/o mezclarse antes o en el momento de la administración para proporcionar una forma inyectable de dosis unitaria. Preferentemente, el excipiente farmacéuticamente aceptable usado en la presente invención es adecuado para concentraciones de fármaco elevadas, puede mantener una fluidez adecuada y, si es necesario, retrasar la absorción.

La elección de la vía de administración óptima de las composiciones farmacéuticas estará influenciada por varios factores incluyendo las propiedades físico-químicas de las moléculas activas dentro de las composiciones, la urgencia de la situación clínica y la relación de las concentraciones en plasma de las moléculas activas con el efecto terapéutico deseado. Por ejemplo, si es necesario, las moléculas de unión humanas de la invención pueden prepararse con vehículos que las protegerán contra una liberación rápida, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes, parches transdérmicos y sistemas de administración microencapsulados.

Se pueden usar, entre otros, polímeros biodegradables biocompatibles tales como acetato de etilvinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Además, puede ser necesario recubrir las moléculas de unión humanas con, o coadministrar las moléculas de unión humanas con un material o compuesto que evite la inactivación de las moléculas de unión humanas. Por ejemplo, las moléculas de unión humanas pueden administrarse a un sujeto en un vehículo adecuado, por ejemplo, liposomas, o un diluyente.

Las vías de administración pueden dividirse en dos categorías principales, administración oral y parenteral. Estas dos categorías incluyen, pero no se limitan a, administración por bolos, bucal, epidérmica, epidural, por inhalación, intraabdominal, intraarterial, intraarticular, intrabronquial, intracapsular, intracardiaca, intracartilaginosa, intracavitaria, intracelular, intracerebelar, intracerebronventricular, intracólica, intracervical, intradérmica, intragástrica, intrahepática, intramedular, intramuscular, intramiocárdica, intranasal, intraocular, intraorbital, intraósea, intrapélvica, intrapericárdica, intraperitoneal, intraplaca, intrapleural, intraprostática, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretinal, intraespinal, intraesternal, intrasinovial, intratecal, intratorácica, intratumoral, intrauterina, intravenosa, intraventricular, intravesical, rectal, espinal, subaracnoidea, subcapsular, subcutánea, subcuticular, sublingual, tópica, transdérmica, transmucosal, transtraqueal y vaginal. La vía de administración preferida es intravenosa.

Las formas de dosificación orales pueden formularse, entre otros, como comprimidos, trociscos, pastillas para

chupar, suspensiones acuosas u oleagionosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras, cápsulas de gelatina blandas, jarabes o elixires, píldoras, grageas, líquidos, geles o suspensiones. Estas formulaciones pueden contener excipientes farmacéuticos incluyendo, pero sin limitarse a, diluyentes inertes tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes granuladores y disgregantes tales como almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes tales como almidón, gelatina o goma arábiga; agentes lubricantes tales como estearato de calcio, behenato de glicerilo, aceites vegetales hidrogenados, estearato de magnesio, aceite mineral, polietilenglicol, estearilo de sodio, fumarato, ácido esteárico, talco, estearato de cinc, conservantes tales como n-propil-p-hidroxibenzoato; agentes colorantes, saborizantes o edulcorantes tales como sacarosa, sacarina, glicerol, propilenglicol o sorbitol; aceites vegetales tales como aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco; aceites minerales tales como parafina líquida, agentes humectantes tales como cloruro de benzalconio, docusato sódico, lecitina, poloxámero, lauril sulfato de sodio, ésteres de sorbitán; y agentes espesantes tales como agar, ácido algínico, cera de abeja, carboximetilcelulosa de calcio, carragenina, dextrina o gelatina.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden formularse para administración parenteral. Las formulaciones para administración parenteral pueden estar, entre otras, en forma de soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas, isotónicas, estériles, no tóxicas, para inyección o infusión. Las vías de administración parenteral preferidas incluyen inyección o infusión intravenosa, intraperitoneal, epidural, intramuscular e intratumoral. Las soluciones o suspensiones pueden comprender agentes que no son tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas, tales como 1,3-butanodiol, solución de Ringer, solución de Hank, solución isotónica de cloruro de sodio, aceites tales como mono- o diglicéridos sintéticos o ácidos grasos tales como ácido oleico, agentes anestésicos locales, conservantes, tampones, agentes potenciadores de la viscosidad o solubilidad, antioxidantes solubles en agua tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfato de sodio, sulfito de sodio y similares, antioxidantes solubles en aceite tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol y similares, y agentes quelantes metálicos tales como ácido cítrico, ácido entilendiamino tetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares.

Las moléculas de unión humanas de acuerdo con la invención, sus variantes o fragmentos, los inmunoconjugados de acuerdo con la invención, las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la invención, las composiciones de acuerdo con la invención o las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden usarse como medicamentos. Pueden usarse, entre otros, para el diagnóstico, prevención, tratamiento o sus combinaciones, de un trastorno o enfermedad neoplásicos. Preferentemente, el trastorno o enfermedad neoplásicos se selecciona del grupo que consiste en leucemia mieloide aguda (AML), leucemia mieloide crónica (CML), leucemia mieloide crónica en crisis hemoblástica (CML-BC), leucemia mielomonocítica crónica, leucemia promielocítica aguda, síndrome mielodisplásico, leucemia mielomonocítica juvenil, leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia no linfocítica aguda (ANLL), leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T (T-ALL), leucemia linfocítica granular grande (LGLL), leucemia linfocítica crónica de linfocitos B (B-CLL) e histiocitosis de células de Langerhans. Las moléculas de unión humanas de la invención son adecuadas para el tratamiento de pacientes que no han sido tratados que padecen cualquiera de los trastornos y enfermedades anteriores, pacientes que han sido o son tratados y están en remisión o no están en remisión y pacientes con enfermedades o trastornos recurrentes/resistentes.

Las moléculas o composiciones mencionadas anteriormente pueden emplearse junto con otras moléculas útiles para el diagnóstico, prevención y/o tratamiento. Pueden usarse *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo*. Las moléculas se formulan normalmente en las composiciones y composiciones farmacéuticas de la invención en una cantidad terapéuticamente o diagnósticamente eficaz. Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta deseada óptima (p. ej., una respuesta terapéutica). Por ejemplo, se puede administrar un único bolo, se pueden administrar varias dosis divididas a lo largo del tiempo o puede reducirse o aumentarse la dosis proporcionalmente como indiquen las exigencias de la situación terapéutica. Las moléculas y composiciones de acuerdo con la presente invención son preferentemente estériles. Los procedimientos para hacer estériles estas moléculas y composiciones son bien conocidos en la técnica. Las otras moléculas útiles para el diagnóstico, prevención y/o tratamiento pueden administrarse en un régimen de dosificación similar al propuesto para las moléculas de unión humanas de la invención. Si las otras moléculas se administran por separado, pueden administrarse a un sujeto con un trastorno o enfermedad neoplásicos antes (p. ej., 2 minutos, 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 60 minutos, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 14 horas, 16 horas, 18 horas, 20 horas, 22 horas, 24 horas, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 7 días, 2 semanas, 4 semanas o 6 semanas antes) de, a la vez que o después (p. ej., 2 minutos, 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 60 minutos, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 14 horas, 16 horas, 18 horas, 20 horas, 22 horas, 24 horas, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 7 días, 2 semanas, 4 semanas o 6 semanas después) de la administración de una o más de las moléculas de unión humanas o composiciones farmacéuticas de la invención. El régimen de dosificación se determina durante ensayos clínicos en pacientes humanos.

Las moléculas de unión humanas y composiciones farmacéuticas que comprenden las moléculas de unión humanas son especialmente útiles, y frecuentemente preferidas, cuando han de administrarse a seres humanos como agentes terapéuticos o de diagnóstico *in vivo*, ya que la respuesta inmunitaria del receptor frente al anticuerpo administrado frecuentemente será sustancialmente menor que la ocasionada por la administración de una molécula de unión monoclonal murina, quimérica o humanizada.

Alternativamente, se administran las células que se modifican genéticamente para expresar las moléculas de unión humanas de la invención a pacientes *in vivo*. Tales células pueden obtenerse a partir de un animal o paciente o un donante con MHC compatible y pueden incluir, pero no se limitan a, fibroblastos, células de la médula ósea, células sanguíneas (p. ej., linfocitos), adipocitos, células musculares, células endoteliales, etc. Las células se modifican genéticamente *in vitro* usando técnicas de ADN recombinante para introducir las moléculas de ácido nucleico de la invención en las células. Preferentemente, las moléculas de unión humanas son segregadas desde las células. Las células modificadas que expresan y preferentemente segregan las moléculas de unión humanas como se describen en el presente documento pueden introducirse en el paciente, por ejemplo, sistémicamente, p. ej., en la circulación o por vía intraperitoneal.

En otras realizaciones, las células pueden incorporarse en una matriz o pueden encapsularse e implantarse en el organismo. En un marco de tratamiento génico, las moléculas de unión humanas pueden administrarse en forma de un vector capaz de infectar células del huésped, que codifica una molécula de unión humana de acuerdo con la invención. En otro aspecto, la invención se ocupa del uso de moléculas de unión humanas, sus fragmentos o variantes, inmunconjugados de acuerdo con la invención, moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la invención, composiciones o composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención en la preparación de un medicamento para el diagnóstico, profilaxis, tratamiento o sus combinaciones, de un trastorno o enfermedad neoplásicos. El trastorno o enfermedad neoplásicos se selecciona preferentemente del grupo descrito anteriormente.

Además de eso, los kits que comprenden al menos una molécula de unión humana de acuerdo con la invención, al menos una de sus variantes o fragmentos, al menos un inmunconjugado de acuerdo con la invención, al menos una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la invención, al menos una composición de acuerdo con la invención, al menos una composición farmacéutica de acuerdo con la invención, al menos un vector de acuerdo con la invención, al menos un huésped de acuerdo con la invención o una de sus combinaciones también forman parte de la presente invención. Opcionalmente, los componentes de los kits de la invención descritos anteriormente se empaquetan en contenedores adecuados y se etiquetan para diagnóstico, prevención y/o tratamiento de las afecciones indicadas. Los componentes mencionados anteriormente pueden almacenarse en contenedores de dosis unitarias o múltiples, por ejemplo, ampollas selladas, viales, botellas, jeringas y tubos de ensayo, como una solución acuosa, preferentemente estéril, o como una formulación liofilizada, preferentemente estéril, para reconstitución. Los contenedores pueden estar formados de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico y pueden tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el contenedor puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial con un tapón horadable con una aguja de inyección hipodérmica). El kit puede comprender además más contenedores que comprenden un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y de usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas, jeringas, medio de cultivo para uno o más de los huéspedes adecuados. Asociadas con los kits pueden existir instrucciones incluidas habitualmente en empaquetamientos comerciales de productos terapéuticos, profilácticos y/o diagnósticos, que contienen información sobre, por ejemplo, las indicaciones, uso, dosificación, fabricación, administración, contraindicaciones y/o advertencias relacionadas con el uso de dichos productos terapéuticos, profilácticos y/o de diagnóstico.

En otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento de detección de CD1a humanas o una de sus variantes o partes, en el que el procedimiento comprende las etapas de a) poner en contacto una muestra con una cantidad diagnósticamente efectiva de una molécula de unión humana de la invención o una de sus variantes funcionales o fragmentos o un inmunconjugado de acuerdo con la invención y b) determinar si la molécula de unión humana o su fragmento o variante funcional o inmunconjugado se une específicamente a un compuesto de la muestra. Los procedimientos de detección son conocidos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, transferencia de bandas western, RIA, ELISA y procedimientos inmunohistoquímicos.

45 Ejemplos

Ejemplo 1

Generación de células dendríticas *in vitro*

Se obtuvieron células dendríticas (CD) cultivadas mediante el aislamiento de monocitos a partir de capas leucocíticas, usando centrifugación en gradiente de densidad de Ficoll para retirar los granulocitos, formación de rosetas con glóbulos rojos de oveja (formación de rosetas-SRBC) para retirar los linfocitos T y adherencia plástica durante 2 horas a 37 °C para retirar otras células y obtener monocitos. Los monocitos obtenidos se cultivaron durante cinco días en presencia de GM-CSF e IL-4 para diferenciarlos en DC inmaduras (principalmente caracterizadas por un fenotipo CD1a⁺/CD83⁻). Una incubación adicional de dos días en presencia de un cóctel de GM-CSF, IL-4, PGE2, IL-1β, IL-6 y TNF-α dio como resultado el desarrollo de DC maduras (principalmente caracterizadas por un fenotipo CD1a⁺/CD83⁺) (Jonuleit y col., 1997) (Véase la Figura 1).

Ejemplo 2**Selección de anticuerpos en fago que portan fragmentos Fv monocatenarios en células dendríticas por clasificación celular**

5 Después de cinco y siete días de cultivo, respectivamente, se obtuvieron aproximadamente $1,5 \times 10^7$ monocitos maduros e inmaduros derivados de CD a partir de los matraces de cultivo de tejido y se mezclaron con 0,5 ml de una colección de presentación de anticuerpos scFv en fago semisintética. Esta colección de fragmentos de anticuerpo monocatenarios humanos se construyó como se describe por de Kruif y col. (1995b). Brevemente, la colección consistía en una combinación de 49 líneas germinales de genes VH fusionados con $\sim 10^8$ regiones CDR3 de cadenas pesadas sintéticas y 7 cadenas ligeras. Las regiones CDR3 tenían longitudes que variaban entre 6 y 15 aminoácidos. Las cadenas ligeras estaban codificadas por miembros de las familias $\lambda 1$ a $\lambda 4$ y $\lambda 1$ a $\lambda 3$. La colección final comprendía aproximadamente 4×10^8 clones individuales.

10 Se bloquearon 0,5 ml de la colección anterior que contenían aproximadamente 10^{13} partículas de fago por ml a 4°C durante 15 minutos en medio RPMI que contenía un 20 % de suero fetal bovino y EDTA 5 mM. Después de eso, se añadieron aproximadamente $1,5 \times 10^7$ DC inmaduras o aproximadamente $7,3 \times 10^6$ DC maduras a la colección bloqueada en presencia de aproximadamente $7,5 \times 10^7$ leucocitos de sangre periférica (PBL) recién obtenidos que actúan como células sustractoras en un volumen final de 5 ml. Esta mezcla se rotó lentamente durante la noche a 4°C . Al día siguiente, las células se lavaron dos veces con 50 ml de medio RPMI enfriado en hielo que contenía un 20 % de suero fetal bovino y EDTA 5 mM y se tiñeron con 100 μl de anticuerpo anti-CD83 conjugado con PE (BD PharMingen) y 100 μl de anticuerpo anti-CD1a conjugado con FITC (BD PharMingen) para visualizar las poblaciones de células dendríticas en un citómetro de flujo. Estos anticuerpos no reconocieron los PBL y, por lo tanto, se obtuvo una población de DC pura. Después de una incubación de 1 hora en hielo, las células se lavaron una vez con 15 ml del medio anterior y se resuspendieron en de 4 a 6 ml del medio. Justo antes de la clasificación, se separaron las células con un filtro de células (BD). La clasificación de células se realizó en un clasificador de células activadas por fluorescencia FACStar^{PLUS} con los parámetros de selección fijados alrededor de las CD CD83⁺CD1a⁺ inmaduras o CD83⁺CD1a⁺ maduras. Para cada población celular, se clasificaron de 10^4 a 10^5 células con fagos todavía unidos.

20 Para eluir fagos específicamente unidos, las células se sedimentaron durante 10 minutos a 1200 rpm. Después de esto, se resuspendieron en un volumen de 100 μl del sobrenadante obtenido y se llevaron a un tubo de 50 ml que contenía 150 μl de citrato de sodio 76 mM. Tras 10 minutos a temperatura ambiente, el pH se neutralizó añadiendo 200 μl de tampón Tris-HCl 1 M (pH 7,4). Finalmente, se añadieron 1 ml de medio 2TY y 1 ml de *Escherichia coli* XL-1 azul en fase logarítmica. La infección se dejó avanzar durante 30 minutos a 37°C . Después, las bacterias se centrifugaron a 2800 rpm durante 10 minutos, se suspendieron en 0,5 ml de 2TY y se plaquearon en placas de agar que contenían 25 $\mu\text{g/ml}$ de tetraciclina, 100 $\mu\text{g/ml}$ de ampicilina y glucosa al 5 %. Después de cultivarlas durante la noche a 37°C , las placas se rasparon y las bacterias se congelaron en viales de almacenamiento o se usaron para preparar la siguiente colección restringida, usando el fago colaborador VCSM13. Tras la Cebadora serie de selección se obtuvieron $7,6 \times 10^4$ y $2,5 \times 10^4$ colonias a partir de la selección con DC maduras e inmaduras, respectivamente.

30 La serie de selección descrita anteriormente se repitió dos veces más, con la condición de que, tanto después de la segunda como de la tercera serie, las bacterias se sembraron en la dilución adecuada, permitiendo el aislamiento de colonias individuales. Los veinte clones individuales obtenidos se crecieron por separado y se rescataron con fago colaborador VCSM13 para preparar disoluciones de anticuerpos en fagos. Después, cada uno de los veinte clones obtenidos se ensayó para evaluar la unión específica a la población de DC inmaduras y maduras (véanse los paneles superiores de la Figura 2 para la unión del anticuerpo en fago monocatenario representativo denominado SC02-113 a DC maduras e inmaduras).

Ejemplo 3**45 Identificación de CD1a como el antígeno reconocido por los anticuerpos en fago scFv seleccionados**

En total, se realizaron tres series de selección y, tanto después de la segunda serie como de la tercera, se ensayaron anticuerpos en fago para evaluar la unión específica a una variedad de tipos celulares, es decir, DC cultivadas, PBL, suspensiones celulares de las amígdalas y de líquido sinovial, varias líneas celulares incluyendo K562, U266, IM9, U937, THP, CEM, Fravel, HL60, Raji, RPMI8226, HepgII, HELA, HT29 y Jurkatt, una línea celular C1R transfectada con la molécula CD1a y líneas celulares A431 transfectadas con las moléculas CD80, CD83 y CD86. Para teñir las células, se bloquearon 100 μl de los anticuerpos en fago añadiendo 50 μl de PBS que contenía un 4 % de leche en polvo durante 15 minutos a temperatura ambiente. Después, se añadieron a los anticuerpos en fago bloqueados 5×10^5 células en 50 μl de PBS que contenía BSA al 1 % y la mezcla obtenida se incubó en hielo durante 1 hora. Después de eso, la mezcla obtenida se lavó tres veces con 200 μl de PBS que contenía BSA al 1 %. Para detectar los anticuerpos en fago unidos a células, se incubaron las células con 20 μl de una dilución 1:800 de anticuerpo policlonal anti-M13 de oveja durante 20 minutos en hielo. Después, las células se lavaron con PBS que contenía BSA al 1 % y se incubaron con 20 μl de una dilución 1:700 de anticuerpo policlonal de burro anti-oveja conjugado con PE durante 20 minutos en hielo.

Para visualizar DC se lavaron las células de nuevo con PBS que contenía BSA al 1 %, se tiñeron con 10 µl de anticuerpo anti-CD1a conjugado con FITC (BD PharMingen) diluido 1:10 y se suspendieron en 200 µl de PBS que contenían BSA al 1 %. Se realizaron ensayos de citometría de flujo usando un FACScan (Becton Dickinson).

5 Los veinte anticuerpos en fago scFv derivados de las selecciones descritas anteriormente se unieron exclusivamente a la línea celular transfectada con CD1a (véase el panel inferior de la derecha de la Figura 2 para la unión del anticuerpo en fago scFv representativo denominado SC02-113 a la línea celular transfectada con CD1a). Las células C1R transfectadas con vector que contenía un inserto de CD1a fueron claramente positivas, mientras que la línea celular C1R transfectada con vector sin inserto CD1a (transfección simulada) fue negativa tras la tinción con los anticuerpos en fago (véase el panel inferior de la izquierda de la Figura 2 para la unión del anticuerpo en fago scFv representativo denominado SC02-113 a la línea celular con transfección simulada). Las líneas celulares A431 transfectadas con CD80, CD83 y CD86 fueron negativas tras la tinción con los anticuerpos en fago (datos no mostrados).

Ejemplo 4

Caracterización de los scFv específicos para CD1a humanas

15 A partir de los veinte clones de anticuerpos en fago (scFv) que se unieron exclusivamente a la línea celular transfectada con CD1a humanas, se obtuvo ADN plasmídico y se determinaron las secuencias de nucleótidos de acuerdo con técnicas estándar. Brevemente, la secuencia de nucleótidos de la VH y la VL de los veinte clones se determinó usando los cebadores M13REV (5'-AACAGCTATGACCATG (SEC ID N.º: 23)) y fdSeq (5'-GAATTTTCTGTATGAGG (SEC ID N.º: 24)) en una reacción secuencial con el kit de secuenciación Taq con el siguiente protocolo de ciclos (25 ciclos): 94 °C durante 10 segundos (desnaturalización), 50 °C durante 5 segundos (alineamiento) y 60 °C durante 4 minutos (extensión). El ADN precipitado se disolvió en tampón de muestra, se hizo migrar y se analizó en un secuenciador fluorescente automático ABRIPRISM. Las secuencias de nucleótidos obtenidas se compararon con la base de datos VBASE, que es bien conocida por el experto medio en la técnica de anticuerpos, y se determinó la familia génica de cada cadena individual. Resultó que los veinte clones contenían seis scFv diferentes. Éstos se denominaron SC02-113, SC02-114, SC02-115, SC02-116, SC02-117 y SC02-118 respectivamente (véase la Tabla 1). Las secuencias de aminoácidos de los scFv denominados SC02-113, SC02-114, SC02-115, SC02-116, SC02-117 y SC02-118 se muestran en las SEC ID N.º: 25, SEC ID N.º: 27, SEC ID N.º: 29, SEC ID N.º: 31, SEC ID N.º: 33 y SEC ID N.º: 35, respectivamente (véase la Tabla 1). Las secuencias de nucleótidos de los scFv denominados SC02-113, SC02-114, SC02-115, SC02-116, SC02-117 y SC02-118 se muestran en las SEC ID N.º: 26, SEC ID N.º: 28, SEC ID N.º: 30, SEC ID N.º: 32, SEC ID N.º: 34 y SEC ID N.º: 35, respectivamente (véase la Tabla 1). La identidad de los genes VH y VL y las secuencias CDR3 de cadena pesada de los scFv específicos para CD1a humanas también se representan en la Tabla 1.

Ejemplo 5

Construcción de moléculas de inmunoglobulina totalmente humanas (anticuerpos anti-CD1a monoclonales humanos) a partir de los Fv monocatenarios anti-CD1a seleccionados

35 Las regiones variables de cadena pesada y ligera de los scFv denominados SC02-113, SC02-114, SC02-115, SC02-116, SC02-117 y SC02-118 se amplificaron por PCR usando oligonucleótidos para incluir sitios de restricción y/o secuencias para expresión en los vectores de expresión de IgG pSyn-C03-HCγ1 (véase la SEC ID N.º: 37), pSyn-C05-Cκ (véase las SEC ID N.º: 38) y pSyn-C04-Cλ (véase la SEC ID N.º: 39). Las regiones variables de cadena pesada de los scFv denominados SC02-113, SC02-114, SC02-115, SC02-116, SC02-117 y SC02-118 se clonaron en el vector pSyn-C03-HCγ1; la región variable de cadena ligera compartida de los scFv denominados SC02-113, SC02-114, SC02-116, SC02-117 y SC02-118 se clonó en el vector pSyn-C05-Cκ; la región variable de cadena ligera del scFv denominado SC02-115 se clonó en el vector pSyn-C04-Cλ. El gen VL compartido entre los scFv SC02-113, SC02-114, SC02-116, SC02-117 y SC02-118 se amplificó en Cebador lugar usando oligonucleótidos 5K-I (SEC ID N.º: 40) y sy3κ-C (SEC ID N.º: 41) (véase más adelante) y los productos de PCR se clonaron en el vector pSyn-C05-Cκ. El gen VL gen para scFv SC02-115 se amplificó en Cebador lugar usando nucleótidos sy5L-A (SEC ID N.º: 42) y 3L-B (SEC ID N.º: 43) (véase más adelante) y el producto de PCR se clonó en el vector pSyn-C04-Cλ. Se verificaron las secuencias de nucleótidos para todas las construcciones de acuerdo con técnicas estándar conocidas por el experto en la técnica.

50 Los genes VH se amplificaron en Cebador lugar usando los siguientes juegos de oligonucleótidos: SC02-113, 5H-Fshort (SEC ID N.º: 44) y sy3H-A (SEC ID N.º: 45); SC02-114, SC02-116 y SC02-117, 5H-B (SEC ID N.º: 46) y sy3H-A (SEC ID N.º: 45); SC02-118, 5H-B**65 (SEC ID N.º: 47) y sy3H-A (SEC ID N.º: 45); SC02-115; en Cebador lugar 5H-A (SEC ID NO:48) y 115int68 (SEC ID N.º: 49) y después el producto de PCR obtenido se amplificó de nuevo con los cebadores 5H-A (SEC ID N.º: 48) y sy3H-A (SEC ID N.º: 45). Después, los productos de PCR se clonaron en el vector pSyn-C03-HCγ1 y las secuencias de nucleótidos se verificaron de acuerdo con técnicas estándar conocidas por el experto en la técnica.

5H-B**65

acctgtcttgaattctccatggccgaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtaca
tcc

5H-B

acctgtcttgaattctccatggccgaggtgcagctggtggagtctg

115int68

caccagggtgccctggccccagtagtcaaagtaactcggcatctgcgaccttgacagtaat
acacgg

5H-A

acctgtcttgaattctccatggcccaggtgcagctggtgcagtctgg

5H-Fshort

acctgtcttgaattctccatggcccaggtgcagctgcaggagtccggcc

sy3H-A

gcccttggtgctagcgtggagacgggtcaccagggtgccctggcccc

5K-I

acctgtctcgagttttccatggctgacatccagatgaccagttctccatectcc

sy3K-C

gggaccaaggtggagatcaaacggaccgtggccgccccccagc

sy5L-A

acctgtctcgagttttccatggcttccctccgagctgaccagaccctgctg

3L-B

ttttccttagcggccgcgactcacctaggacgggtcagcttggtc

5 Las construcciones de expresión resultantes pgG102-113C03, pgG102-114C03, pgG102-115C03, pgGI02-116C03, pgG102-117C03 y pgGI02-118C03 (cuyos depósitos tienen los números de acceso 03102801, 03102802, 03102803, 03102804, 03102805 y 03102806) que codifican las cadenas pesadas de las IgG humanas anti-CD1a se expresaron de forma transitoria en combinación con la construcción pSyn-C05-Vkl (cuyo depósito tiene el número de acceso 03102807), con la excepción de la construcción pgG102-115C03, que se transfectó con la construcción pSyn-C04-V13 (cuyo depósito tiene el número de acceso 03102808), que codifica las cadenas ligeras en células 293T, y se obtuvieron sobrenadantes que contenían anticuerpos IgG1. Las secuencias de nucleótidos de las cadenas pesadas

de los anticuerpos denominados 02-113, 02-114, 02-115, 02-116, 02-117 y 02-118 (los anticuerpos también se denominan en el presente documento CR2113, CR2114, CR2115, CR2116, CR2117 y CR2118, respectivamente) se muestran en las SEC ID N.º: 50, 52, 54, 56, 58 y 60, respectivamente. Las secuencias de nucleótidos de las cadenas pesadas de los anticuerpos denominados 02-113, 02-114, 02-115, 02-116, 02-117 y 02-118 (los anticuerpos también se denominan en el presente documento CR2113, CR2114, CR2115, CR2116, CR2117 y CR2118, respectivamente) se muestran en las SEC ID N.º: 51, 53, 55, 57, 59 y 61, respectivamente.

La secuencia de nucleótidos de la cadena ligera de los anticuerpos 02-113, 02-114, 02-116, 02-117 y 02-118 se muestra en la SEC ID N.º: 62 y la del anticuerpo 02-115 en la SEC ID N.º: 64. La secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de los anticuerpos 02-113, 02-114, 02-116, 02-117 y 02-118 se muestra en la SEC ID N.º: 63 y la del anticuerpo 02-115 en la SEC ID N.º: 65. Posteriormente, se purificaron los anticuerpos en columnas de proteína A y columnas de exclusión por tamaño usando procedimientos de purificación estándar usados generalmente para inmunoglobulinas (véase, por ejemplo, el documento WO 00/63403).

Se confirmó la capacidad de los anticuerpos de IgG1 anti-CD1a humanos para unirse a líneas celulares transfectadas con CD1a esencialmente como se describe para los scFv (véase el Ejemplo 3) Los anticuerpos anti-CD1a purificados se diluyeron a concentraciones diversas (representadas en las figuras) y se detectaron con IgG_k anti-humanas de ratón marcadas con FITC o estreptavidina marcada con FITC en el caso de anticuerpos anti-CD1a humanas biotiniladas. Además de las líneas celulares C1R-CD1a y C1R con transfección simulada descritas en el Ejemplo 3, se ensayaron las líneas celulares C1R-CD1b, C1R-CD1c, C1R-CD1d y B16-CD1a y B16 con transfección simulada. Cada tinción se repitió tres veces y se comparó con el anticuerpo de control de isotipo no relacionado de control negativo denominado CR2027 usando la prueba de Kolmogorov - Smirnov. Para calcular las estadísticas de K-S, se realizó una superposición de histogramas del anticuerpo de control de isotipo y el anticuerpo anti-CD1a. Se determinó el desplazamiento logarítmico entre los picos de los histogramas y se usó para calcular el valor de D. Cuanto mayor es el desplazamiento logarítmico del pico de respuesta del anticuerpo anti-CD1a con respecto al pico de respuesta del anticuerpo de control de isotipo, mayor es el valor de D.

Tras la conversión a IgG completas, los seis anticuerpos se unieron al transfectante B16-CD1a a una concentración de 10 µg/ml, sin embargo sólo cuatro de los seis, es decir, los anticuerpos denominados CR2113, CR2114, CR2117, CR2118 se unieron al transfectante C1R-CD1a (véase la Figura 3, figuras del lado izquierdo). Ninguno de los anticuerpos se unió significativamente a C1R o B16 con transfección simulada (véase la Figura 3, figuras del lado derecho).

No se detectó tinción específica de ninguno de los seis anticuerpos monoclonales anti-CD1a humanos en los transfectantes C1R-CD1b o C1R-CD1d (véase la Figura 4). Se detectó una tinción ligera, pero significativa ($p < 0,05$) para los dos anticuerpos CR2114 y CR2117 en transfectantes C1R-CD1c (véase la Figura 4). Los resultados demuestran la especificidad de unión de los anticuerpos para CD1a humanas, incluso entre la familia de genes de CD1 humanas altamente conservadas. Además, también se llevó a cabo la tinción en timocitos de ratón recién preparados, que expresan CD1a y CD1d murinas a niveles bajos. No se observó tinción específica para ninguno de los seis anticuerpos monoclonales anti-CD1a humano, demostrando la especificidad de especie de los anticuerpos (véase la Tabla 2).

Se generaron curvas de unión para los anticuerpos CR2113, CR2114, CR2117 y CR2118 midiendo la unión en células B16-CD1a transfectadas con FACS como anteriormente usando las concentraciones de anticuerpo que varían desde 0,01 hasta 10 µg/ml. Se usaron anticuerpos tanto no marcados como biotinilados y el patrón de tinción fue indistinguible entre las dos formas (véanse las Figuras 5A-D). CR2113 mostró saturación de unión a 1 µg/ml, CR2114 no se saturó a 10 µg/ml y CR2117 y CR2118 tiñeron los transfectantes menos intensamente comparados con CR2113 y CR2114.

Se realizaron experimentos de competición para determinar si los anticuerpos reconocen epítomos diferentes. Se tiñeron células de melanoma de ratón B16 que expresaban CD1a humanas con CR2113, CR2114, CR2117, CR2118 no marcados o el control negativo CR2027 a concentraciones diferentes (0,1, 0,3, 1, 3, 10, 30, 50, 100 µg/ml) durante 30 minutos y después se tiñeron con uno de los anticuerpos anteriores marcados con biotina como se describe anteriormente durante 5 minutos a una concentración de 2,5 µg/ml. La detección se realizó mediante estreptavidina marcada con FITC con 20 minutos de incubación. Además, la tinción se realizó como se describe anteriormente (véase el Ejemplo 3). Cada tinción se realizó tres veces sucesivas y se calculó el valor de D con la estadísticas de K-S (véase anteriormente). La tinción del anticuerpo de control no marcado CR2027 se muestra mediante la línea discontinua, la tinción usando el anticuerpo de ensayo se representa con una línea continua. CR2113 fue capaz de competir consigo mismo de manera dependiente de dosis, sin embargo, ninguno de los otros anticuerpos pudo competir con CR2113 biotinilado por la unión (véase la Figura 6A). Esto se debe, probablemente, a su afinidad de unión superior por CD1a humanas en comparación con los otros anticuerpos. Por el contrario, CR2113 no marcado fue capaz de competir por la unión de CR2114 (véase la Figura 6B), CR2117 (véase la Figura 6C) y CR2118 (véase la Figura 6D) a transfectantes B16-CD1a de manera dependiente de la concentración. Tampoco CR2117 o CR2118 fueron capaces de competir con CR2114 por la unión a CD1a. Esto podría deberse a una afinidad por debajo de la óptima.

En conclusión, los cuatro anticuerpos ensayados parecen compartir epítomos solapados, aunque en el caso de

CR2113 y CR2114 es poco probable que éstos sean idénticos debido a las diferencias de la especificidad vistas en la Figura 3.

Ejemplo 6

Inmunohistoquímica con anticuerpos anti-CD1a monoclonales humanos

5 Se analiza la capacidad de los anticuerpos anti-CD1a monoclonales humanos para unirse a tejidos normales mediante inmunohistoquímica. Con este fin, secciones congeladas de los siguientes tejidos normales: glándula adrenal; vejiga, cerebro (cerebelo y cerebro); vasos sanguíneos (arterias aorta y coronaria); trompa de Falopio; esófago; estómago (antro pilórico y cuerpo); duodeno; íleo; colon; corazón; riñón; hígado; pulmón; ganglio linfático; ovario; páncreas; paratiroides; nervio periférico; glándula pituitaria; placenta; próstata; glándula salival; piel; médula espinal; bazo; músculo estriado; testículos; amígdala; tiroides; uréter y útero (cuello y endometrio) se cortan, se montan en portaobjetos de vidrio y se secan a temperatura ambiente. Las secciones se bloquean para peroxidasa endógena con azida de sodio 50 mM que contiene un 0,03 % de H₂O₂ durante 20 minutos, seguido de bloqueo para biotina endógena de acuerdo con el protocolo proporcionado (X0590, Dako). Posteriormente, las secciones se bloquean con PBS que contiene BSA al 4 % y suero humano normal al 10 % antes de la incubación con las IgG humanas anti-CD1a humanas biotiniladas durante 60 minutos a temperatura ambiente. Para detectar moléculas de IgG unidas las secciones se incuban con peroxidasa de rábano acoplada a estreptavidina (Dako) seguida de incubación con diaminobencidina (Sigma), dando como resultado el depósito local de cristales marrones. Las secciones se contratiñeron con hematoxilina para visualizar células nucleadas dentro de las secciones. Antes del análisis se deshidratan las secciones y los portaobjetos se sellan con eukitt (BDH).

Ejemplo 7

Análisis por citometría de flujo de la expresión de moléculas CD1a en líneas celulares tumorales y muestras tumorales recién obtenidas con anticuerpos anti-CD1a monoclonales humanos

Se usa el conjunto de anticuerpos IgG anti-CD1a humanos para evaluar la expresión de CD1a en las siguientes muestras tumorales recién obtenidas: leucemia mieloide aguda (AML), leucemia no linfocítica aguda (MILL), leucemia mieloide crónica en crisis hemoblástica (CML-BC), leucemia linfocítica granular grande (LGLL), leucemia linfocítica crónica de linfocitos B (B-CLL), leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T (T-ALL) y línea celular SUP-T1. Con este fin, se tiñen 2*10⁵ células mononucleares preparadas por separación en gradiente de ficoll-paque (para muestra recién preparadas) o a partir de cultivo de acuerdo con las instrucciones del fabricante (para líneas celulares) con los anticuerpos IgG anti-CD1a humanos de la invención a concentraciones que varían desde 0 hasta 50 µg/ml a 4 °C. La unión de los anticuerpos denominados 02-113, 02-114, 02-115, 02-116, 02-117 y 02-118 se visualiza usando IgG de cabra anti-humanas biotiniladas (específicas de Fc, Caltag) seguidos de ficoeritrina-estreptavidina (Caltag). Las células teñidas se analizan por citometría de flujo. Se esperan niveles de tinción de moderados a altos en subpoblaciones de las células tumorales de acuerdo con el fenotipo establecido con monoclonales de ratón anti-CD1a. Se espera que sean necesarios niveles de expresión de CD1a de moderados a altos para que los anticuerpos monoclonales anti-CD1a humanos sean útiles como moléculas terapéuticas.

Ejemplo 8

Estudios de internalización con anticuerpos anti-CD1a monoclonales humanos

Se realizan ensayos de internalización con líneas celulares que expresan CD1a tales como células Jurkatt, con el fin de determinar la capacidad de internalización de los anticuerpos IgG1 anti-CD1a humanas monoclonales humanos. Los anticuerpos IgG anti-CD1a humanas se tiñen con tinte de marcaje Oregon Green-480-SE (Molecular Probes) como sigue. Se disuelven 0,1 mg del tinte en 10 µl de DMSO, se añaden a 0,4 mg de anticuerpo en un volumen final de 0,4 ml de PBS y se incuban a temperatura ambiente durante 1 hora. Posteriormente, esta mezcla se carga en una columna de Sephadex G25 equilibrada con PBS. El anticuerpo marcado se eluye con PBS y se recoge la fracción coloreada. Se cargan alícuotas de 5*10⁵ células Jurkatt con el anticuerpo adecuado a una concentración saturante en hielo durante 30 minutos. El anticuerpo no unido se retira mediante tres lavados con medio RPMI 1640 enfriado en hielo que contiene medio FBS al 10 %. Posteriormente, las células se resuspenden en 50 µl del medio y se incuban durante 1 hora a 4 °C (no hay internalización) o a 37 °C para permitir la internalización de los anticuerpos. Tras los tres lavados con PBS enfriado en hielo, los anticuerpos unidos a la superficie celular se retiran de las células con 2,5 mg/ml de subtilisina durante 1 hora a 4 °C. Las células se lavan de nuevo con PBS-BSA al 1 % enfriado en hielo y las muestras se analizan por citometría de flujo. Con las células que se incuban a 4 °C (una temperatura a la que no se produce internalización) las IgG unidas a células pueden retirarse de las células como se muestra por pérdida de fluorescencia. Por otro lado, cuando las células se incuban a 37 °C para permitir la internalización de los anticuerpos, las células siguen siendo fluorescentes tras eliminar los anticuerpos unidos a moléculas CD1a en la superficie celular retirando las células usando subtilisina. Esto indica que los anticuerpos anti-CD1a se internalizan en las células y se han hecho resistentes al tratamiento con proteasa. Por el contrario, un anticuerpo de control negativo, anti-CD20 (que no se internaliza, véase Ghetie y col. (2001)), puede retirarse de las células a ambas temperaturas, lo que indica que el anticuerpo se une a su diana, pero no se internaliza en la célula. Por un lado, la internalización de anticuerpos anti-CD1a permitirá una mayor eficacia de los inmunoconjugados que

contienen ciertas moléculas tóxicas acopladas a los anticuerpos anti-CD1a que se internalizan, si tales moléculas tóxicas necesitan atravesar la membrana celular para una función/actividad eficaces. Por otro lado, los anticuerpos anti-CD1a incapaces de internalizarse pueden ser útiles en radioconjugados. Tales conjugados no necesitan atravesar la membrana celular para ejercer un efecto citotóxico. Además, los anticuerpos unidos a la superficie de células diana pueden captar leucocitos citotóxicos tales como células asesinas naturales (ADCC) o dirigir el depósito del complemento (CDC). La internalización rápida de CD1a tras la unión de los anticuerpos podría interferir con estos procesos.

Ejemplo 9

Inducción de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) en células tumorales usando anticuerpos anti-CD1a humanos

Para determinar la capacidad de los anticuerpos anti-CD1a humanos monoclonales humanos de inducir citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) se realizan ensayos estándar de liberación de ^{51}Cr . Para experimentos de ADCC, se marcan células tumorales diana HL60 o U937 con 100 μCi de ^{51}Cr (Amersham, Buckinghamshire, Reino Unido) durante 1 hora a 37 °C. Tras un lavado exhaustivo, las células diana se plaquean en placas de microvaloración de suelo U a una concentración de 5×10^3 células/pocillo. Posteriormente se añaden células mononucleares de sangre periférica humanas aisladas a varias proporciones efector-diana que varían desde 80:1 hasta 10:1. Las mezclas de células se incuban por triplicado a 37 °C en presencia de diversas concentraciones de los anticuerpos anti-CD1a monoclonales humanos en un volumen final de 150 μl . Tras 4 horas de incubación, se recoge parte del sobrenadante y se mide su contenido en ^{51}Cr . El porcentaje de lisis específica se calcula usando la fórmula: % lisis específica = $[(\text{cpm experimentales} - \text{cpm basales}) / (\text{cpm máximas} - \text{cpm basales})] \times 100$ %. La lisis máxima se determina lisando las células diana con Triton X-100 al 1 %, mientras que la liberación basal se mide incubando las células diana con medio solo.

Para los experimentos de CDC se sigue el mismo procedimiento, con la excepción de que las células efectoras se reemplazan con 50 μl de suero humano como fuente de complemento.

Si la lisis específica de células diana debida a ADCC y/o CDC es significativamente mayor cuando las células se incuban con los anticuerpos anti-CD1a que cuando las células se incuban con anticuerpos de control, hay una probabilidad mayor de que los anticuerpos anti-CD1a sean más eficaces como anticuerpos desnudos y en un entorno *in vivo*.

Ejemplo 10

Eficacia antitumoral *in vivo* de anticuerpos anti-CD1a humanos en un modelo de tumor de ratón transfectado con CD1a

Para analizar la eficacia antitumoral potencial de los anticuerpos anti-CD1a humanos *in vivo*, se realizan experimentos en animales empleando un modelo de tumor de B16 de ratón transfectadas con CD1a humanas. Este tumor se ha descrito ampliamente en la bibliografía sobre inmunología de tumores (véase Fidler y col. (1976)) y crece progresivamente, por ejemplo, en ratones sinérgicos C57B1/6. Para ensayar el efecto del tratamiento anti-CD1a, se inocularon ratones C57B1/6, C57B1/6 atímicos, SCID o NOD-SCID por vía subcutánea en el día 0 con 1×10^6 células tumorales B16. Cada ratón recibe células B16 transfectadas con ADNc de CD1a en la orientación sentido (es decir, se expresa normalmente) en un flanco. En el flanco opuesto, los ratones reciben células B16 transfectadas con ADNc de CD1a en la orientación antisentido (es decir, no se expresa) para actuar como control negativo. En algunos experimentos las células CD1a-B16 se cotransfectan con luciferasa para la detección en tiempo real del crecimiento del tumor. A los animales se les suministra una dosis de 240 μg de anticuerpo anti-CD1a humano por vía intraperitoneal (i.p.) en el día 1, seguida de tres dosis más de 80 μg de anticuerpo i.p. en los días 3, 6 y 9. Después, los animales se monitorizan para evaluar el crecimiento del tumor durante más de 28 días, los animales se sacrifican cuando los tamaños de los tumores exceden los 2 cm^3 o tras la ulceración del tumor. El tamaño del tumor puede monitorizarse mediante técnicas de imagen por fluorescencia (en el caso de células B16 transfectadas con luciferasa) o directamente mediante calibres. Un efecto antitumoral potencial de los anticuerpos se analiza comparando la excrecencia del tumor en animales que reciben tratamiento con anticuerpos en comparación con grupos de control que se tratan con el vehículo de solución salina o con un anticuerpo de control de IgG humana.

Todos los anticuerpos anti-CD1 monoclonales capaces de unirse específicamente a CD1a podrían ensayarse en el modelo *in vivo*. La efectividad en el ensayo de ADCC y/o CDC no es un criterio para la inclusión en el estudio *in vivo*. La inhibición significativa del crecimiento del tumor en comparación con los controles de isotipo de anticuerpo se considera una indicación fuerte de que los anticuerpos monoclonales anti-CD1a son eficaces en la inhibición del crecimiento de tumores que expresan CD1a en seres humanos.

Ejemplo 11**Análisis BIACORE de los anticuerpos anti-CD1a**

El BIACORE 3000, que aplica la técnica de resonancia de plasmón superficial en tiempo real, se usa para realizar medidas de afinidad con los anticuerpos anti-CD1a preparados como se describe anteriormente y un anticuerpo de control anti-CD1a murino. En Cebador lugar, el ligando, es decir, la proteína CD1a (Abnova corporation), se inmoviliza como un ligando en un chip sensor de canal de 4 flujos (Fc) CM5 de calidad para investigación usando acoplamiento de aminas. Brevemente, la matriz de dextrano del chip CM5 (BIACORE) se activa con una mezcla de N-hidroxisuccinimida (NHS) y N-etil-N'-(dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC). Después, la proteína CD1a (preferentemente 30 µg/ml) se acopla a los grupos carboxilo activados de la matriz. Después del acoplamiento, se añade etanolamina-HCl 1 M (pH 8,5) para desactivar los grupos carboxilo activos restantes. Uno de los cuatro canales se activa y se desactiva sin acoplamiento a proteína CD1a y sirve como canal de flujo de control. Después de esto, se realizan ensayos cinéticos. Con ese fin, se investigan el índice de asociación (Ka), el índice de disociación (Kd) y la afinidad (KD) de los anticuerpos anti-CD1a. Se aplican una serie de concentraciones entre 0,01 y 1000 nM a 25 °C (factor de dilución 2, tampón de dilución HBS-EP). Uno de los cuatro canales se usa como célula de flujo de referencia y la inyección de tampón HBS-EP sirve como inyección de control. Se inyectan cincuenta µl de los anticuerpos correspondientes con un caudal constante de 20 µl/min. Al final de la inyección, se aplica durante 750 segundos el tampón HBS-EP, seguido de la regeneración del chip CM5 con pulsos de tampón de regeneración (por ejemplo, glicina, pH 2) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El experimento se repite 3 veces para determinar la variación del ensayo. Después, se usa el programa informático de evaluación de BIACORE para ajustar las curvas de asociación y disociación de las concentraciones de las series de concentraciones. La afinidad se determina basándose en estos ajustes. Para minimizar los posibles efectos de avidéz de los anticuerpos bivalentes, se incluyen los siguientes 4 parámetros importantes durante la evaluación; 1) intervalo de concentración de 0,1 - 10 x KD, 2) valores bajos de error estándar de índices de Ka y Kd, 3) valores de Chi² residuales bajos y 4) buena precisión (preferentemente <20 %). Los anticuerpos anti-CD1a se unen preferentemente con afinidad alta en el intervalo de 0,1-50 nM.

Tabla 1: Secuencias de nucleótidos y aminoácidos, secuencia de aminoácidos de CDR3 de cadena pesada e identidad génica de los genes VH y VL de los scFv específicos para CD1a.

Nombre del scFv	Secuencia de aminoácidos de HCDR3	SEC ID N.º de la secuencia de nucleótidos del scFv	SEC ID N.º de la secuencia de aminoácidos del scFv	Familia VH	Familia VL
SC02-113	APYMMYFDS (SEC ID N.º: 1)	SEC ID N.º: 25	SEC ID N.º: 26	VH4:DP-66	Vk1:DPK-9
SC02-114	ETWWQSFDY (SEC ID N.º: 2)	SEQ ID N.º: 27	SEC ID N.º: 28	VH3:DP-51	Vk1:DPK-9
SC02-115	SQMPSYFDY (SEC ID N.º: 3)	SEC ID N.º: 29	SEC ID N.º: 30	VH1:DP-14	VA3:DPL-16
SC02-116	DALWLAFDY (SEC ID N.º: 4)	SEC ID N.º: 31	SEC ID N.º: 32	VH3:DP-47	Vk1:DPK-9
SC02-117	STPWFSFDY (SEC ID N.º: 5)	SEC ID N.º: 33	SEC ID N.º: 34	VH3:DP-48	Vk1:DPK-9
SC02-118	SAWWLSFDS (SEC ID N.º: 6)	SEC ID N.º: 35	SEC ID N.º: 36	VH3:DP-48	Vk1:DPK-9

Tabla 2: Unión de los anticuerpos monoclonales anti-CD1a humanos a timocitos de ratón medida por citometría de flujo.

Anticuerpo	Timocitos de ratón (valor de D)
CR2113	0
CR2114	0
CR2115	0
CR2116	0
CR2117	0
CR2118	0
Control positivo (ratón anti-CD1a humanas-FITC)	0,03
Control negativo (anticuerpo anti-GBSIII)	0
Control negativo (IgG de ratón; κ-FITC)	0

REFERENCIAS

5 Amiot M., Bernard A., Raynal B., Knapp W., Deschildre C. y Boumsell L. (1986), *J. Immunol.* 136:1752-1757.

Boel E., Verlaan S., Poppelier M.J., Westerdaal N.A., Van Strijp J.A. y Logtenberg T. (2000), *J. Immunol. Methods* 239:153-166.

Burton D.R. y Barbas C.F. (1994), *Adv. Immunol.* 57:191-280.

De Kruif J., Terstappen L., Boel E. y Logtenberg T. (1995a), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:3938-3942.

10 De Kruif J., Boel E. y Logtenberg T. (1995b), *J. Mol. Biol.* 248:97-105.

Fidler I.J., Gersten D.M. y Budmen M. B. (1976), *Cancer Research* 36:3610-3165.

Furue M., Nindl M., Kawabe K., Nakamura K., Ishibashi Y. y Sagawa K. (1992), *J. Am. Acad. Dermatol.* 27:419-426.

Ghetie M.A., Bright H. y Vitetta E.S. (2001), *Blood* 97:1392-1398.

15 Huls G., Heijnen I.J., Cuomo E., van der Linden J., Boel E., van de Winkel J. y Logtenberg T. (1999), *Cancer Res.* 59: 5778-5784.

Jonuleit H., Kuhn U., Müller G., Steinbrink K., Paragnik L., Schmitt E., Knop J., Enk A.H. (1997), *Eur. J. Immunology* 27:3135-3142.

Kelly K.M., Beverly P.C., Chu A.C., Davenport V., Gordon I., Smith M. y Pritchard J. (1994), *J. Pediatr.* 125:717-722.

Merle-Beral H., Boumsell L., Michel A. y Debre P. (1989), *Br. J. Haematol.* 72:209-212.

20 Salomone M.C., Roisman F.R., Santiago J., Satz M.L. y Fainboim L. (1990a), *Dis. Markers* 8:265-274.

Salomone M.C., Roisman F.R., Santiago J., Satz M.L. y Fainboim L. (1990b), *Dis. Markers* 8:275-281.

Teunissen M.B. (1992), *Histochem. J.* 24:697-716.

Van Kroonenburgh M.J. y Pauwels E.K. (1988), *Nucl. Med. Commun.* 9:919-930.

LISTADO DE SECUENCIAS

5 <110> Crucell Holland BV
 The Johns Hopkins University
 Throsby, Mark
 Van Meijer, Marja
 Germeraad, Wilfred T.V.
 10 Arceci, Robert J.
 Kruisbeek, Ada M.

15 <120> MOLÉCULAS DE UNIÓN HUMANAS CONTRA CD1a

<130> 0097 WO 00 ORD

20

<160> 65

25 <170> PatentIn versión 3.1

30 <210> 1
 <211> 9
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> HCDR3 de SC02-113
 <400> 1
 45 Ala Pro Tyr Met Met Tyr Phe Asp Ser
 1 5

50 <210> 2
 <211> 9
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> HCDR3 de SC02-114
 <400> 2
 65 Glu Thr Trp Trp Gln Ser Phe Asp Tyr
 1 5

ES 2 378 767 T3

<210> 3
5 <211> 9
<212> PRT
10 <213> Secuencia artificial

<220>
15 <223> HCDR3 de SC02-115
<400> 3
20 Ser Gln Met Pro Ser Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 4
25 <211> 9
<212> PRT
30 <213> Secuencia artificial

<220>
35 <223> HCDR3 de SC02-116
<400> 4
40 Asp Ala Leu Trp Leu Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 5
45 <211> 9
<212> PRT
50 <213> Secuencia artificial

<220>
55 <223> HCDR3 de SC02-117
<400> 5
60 Ser Thr Pro Trp Phe Ser Phe Asp Tyr
1 5

<210> 6
65 <211> 9

ES 2 378 767 T3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5

<220>

<223> HCDR3 de SC02-118

10

<400> 6

Ser Ala Trp Trp Leu Ser Phe Asp Ser
 1 5

15

<210> 7

<211> 351

20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Región variable de cadena pesada de 02-113

30

<220>

<221> CDS

35

<222> (1)..(351)

<223>

40

<400> 7

cag gtg cag ctg cag gag tcc ggc gca gga ctg ttg aag cct tcg gag 48
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15

45

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tat ggt ggg tct ttc agt ggc tac 96
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
 20 25 30

50

tac tgg agc tgg atc cgg cag ccc cca ggg aag gga ctg gag tgg att 144
 Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

55

ggg tat atc tat tac agt ggg agc acc aac tac aac ccc tcc ctc aag 192
 Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

60

agt cga gtc acc ata tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg 240
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

65

aag ctg agc tct gtg acc gct gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt gca 288
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

aag gcc cct tat atg atg tat ttt gac tcc tgg ggc cag ggc acc ctg 336
 Lys Ala Pro Tyr Met Met Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu

ES 2 378 767 T3

```

                100                105                110
gtg acc gtc tcc agc
Val Thr Val Ser Ser
5
    115

<210> 8
10 <211> 117
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial
15
<220>
20 <223> Región variable de cadena pesada de 02-113
    <400> 8

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
25 1          5          10          15

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

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

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

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
40 65          70          75          80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
45          85          90          95

Lys Ala Pro Tyr Met Met Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu
50          100          105          110

Val Thr Val Ser Ser
    115

55
<210> 9
<211> 354
60 <212> ADN
    <213> Secuencia artificial

65
<220>

```

ES 2 378 767 T3

```

<223>  Región variable de cadena pesada de 02-114
<220>
5  <221>  CDS
    <222>  (1)..(354)
<223>
10
    <400>  9
15  gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg      48
    Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
    1          5          10          15

    tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt agc tat      96
    Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
    20          20          25          30

    agc atg aac tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggg ctg gag tgg gtt      144
    Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
    25          35          40          45

    tca tac att agt agt agt agt acc ata tac tac gca gac tct gtg      192
    Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    30          50          55          60

    aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tca ctg tat      240
    Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
    35          70          75          80

    ctg caa atg aac agc ctg aga gac gag gac acg gcc gtg tat tac tgt      288
    Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
    40          85          90          95

    gca aag gag act tgg tgg cag tcc ttt gac tac tgg ggc cag ggc acc      336
    Ala Lys Glu Thr Trp Trp Gln Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
    45          100          105          110

    ctg gtg acc gtc tcc agc      354
    Leu Val Thr Val Ser Ser
    50          115

    <210>  10
    <211>  118
50  <212>  PRT
    <213>  Secuencia artificial
55
    <220>
    <223>  Región variable de cadena pesada de 02-114
60
    <400>  10

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

65  Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

```


ES 2 378 767 T3

	20	25	30	
5	Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	35	40	45
10	Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	50	55	60
15	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr	65	70	75
20	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	85	90	95
25	Ala Lys Glu Thr Trp Trp Gln Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr	100	105	110
30	Leu Val Thr Val Ser Ser	115		
35	<210> 11			
40	<211> 354			
45	<212> ADN			
50	<213> Secuencia artificial			
55	<220>			
60	<223> Región variable de cadena pesada de 02-115			
65	<220>			
70	<221> CDS			
75	<222> (1)..(354)			
80	<223>			
85	<400> 11			
90	cag gtg cag ctg gtg cag tct ggg gct gag gcg aag aag cct ggg gcc			48
95	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Ala Lys Lys Pro Gly Ala	1	5	10
100	tca gtg aag gtc tcc tgc aag gct tct gga tac acc ttc acc ggc tac			96
105	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr	20	25	30
110	tat atg cac tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggg ctt gag tgg atg			144
115	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	35	40	45
120	gga tgg atc agc gct tac aat ggt aac aca aac tat gca cag aag ctc			192
125	Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu	50	55	60

ES 2 378 767 T3

5 cag ggc aga gtc acc atg acc aca gac aca tcc acg agc aca gcc tac 240
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

atg gag ctg agg agc ctg aga tct gac gac acg gcc gtg tat tac tgt 288
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

10 gca agg tcg cag atg ccg agt tac ttt gac tac tgg ggc cag gcc acc 336
 Ala Arg Ser Gln Met Pro Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

15 ctg gtg acc gtc tcc agc 354
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

20 <210> 12
 <211> 118
 <212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Región variable de cadena pesada de 02-115
 <400> 12

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

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

45 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

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

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

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

65 Ala Arg Ser Gln Met Pro Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

ES 2 378 767 T3

```

<210> 13
<211> 354
5 <212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Región variable de cadena pesada de 02-116

15 <220>
<221> CDS
<222> (1)..(354)
20 <223>

25 <400> 13
gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg 48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

30 tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttt agc agc tat 96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

35 gcc atg agc tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggg ctg gag tgg gtc 144
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

40 tca gct att agt ggt agt ggt ggt agc aca tac tac gca gac tcc gtg 192
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

45 aag ggc cgg ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat 240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

50 ctg caa atg aac agc cta aga gcc gag gac acg gcc gtg tat tac tgt 288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

55 gca aag gac gct ctt tgg ctg gct ttt gac tac tgg ggc cag ggc acc 336
Ala Lys Asp Ala Leu Trp Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

55 ctg gtg acc gtc tcc agc 354
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

60 <210> 14
<211> 118
<212> PRT

65 <213> Secuencia artificial

```

ES 2 378 767 T3

<220>

5 <223> Región variable de cadena pesada de 02-116

<400> 14

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

15 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

25 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

40 Ala Lys Asp Ala Leu Trp Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

45 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

50 <210> 15

<211> 351

55 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

60 <220>

<223> Región variable de cadena pesada de 02-117

65 <220>

<221> CDS

<222> (1)..(351)

60 <223>

65 <400> 15
 gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cat cct ggg ggg
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

ES 2 378 767 T3

	1	5	10	15	
5	tcc ctg aga ctc Ser Leu Arg	ctc tcc tgt gca ggc Leu Ser Cys Ala Gly	tct gga ttc acc ttc Ser Gly Phe Thr Phe	agt agc tat Ser Ser Tyr	96
		20	25	30	
10	gct atg cac tgg gtt cgc Ala Met His Trp Val	cag gct cca gga aaa ggt Arg Gln Ala Pro Gly Lys	gct cca gga aaa ggt Ala Pro Gly Lys Gly	ctg gag tgg gta Leu Glu Trp Val	144
	35	40	45		
15	tca gct att ggt act ggt Ser Ala Ile Gly Thr	ggt ggt ggc aca tac Gly Gly Thr Tyr Tyr	tat gca gac tcc Tyr Ala Asp Ser	gtg aag Val Lys	192
	50	55	60		
20	ggc cga ttc acc atc Gly Arg Phe Thr	tcc aga gac aat gcc Ser Arg Asp Asn Ala	aag aac tcc ttg Lys Asn Ser Leu	tat ctt Tyr Leu	240
	65	70	75	80	
25	caa atg aac agc ctg Gln Met Asn Ser	aga gcc gag gac acg Leu Arg Ala Glu Asp	gcc gtg tat tac Ala Val Tyr Tyr	tgt gca Cys Ala	288
		85	90	95	
30	agg tct acg cct tgg Arg Ser Thr Pro	ttt tcc ttt gac tac Phe Ser Phe Asp Tyr	tgg ggc cag ggc Trp Gly Gln Gly	acc ctg Thr Leu	336
	100	105	110		
35	gtg acc gtc tcc agc Val Thr Val Ser	Ser Ser			351
	115				
40	<210>	16			
35	<211>	117			
	<212>	PRT			
	<213>	Secuencia artificial			
45	<220>				
	<223>	Región variable de cadena pesada de 02-117			
	<400>	16			
50	Glu Val Gln Leu Val 1	Glu Ser Gly Gly Gly 5 10	Leu Val His Pro 15	Gly Gly	
55	Ser Leu Arg Leu Ser 20	Cys Ala Gly Ser 25	Gly Phe Thr Phe 30	Ser Ser Tyr	
60	Ala Met His Trp Val 35	Arg Gln Ala Pro 40	Gly Lys Gly Leu 45	Glu Trp Val	
65	Ser Ala Ile Gly Thr 50	Gly Gly Gly Thr 55	Tyr Tyr Ala Asp 60	Ser Val Lys	
	Gly Arg Phe Thr Ile 65	Ser Arg Asp Asn Ala 70 75	Lys Asn Ser Leu 80	Tyr Leu	

ES 2 378 767 T3

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

5 Arg Ser Thr Pro Trp Phe Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

10 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 17

15 <211> 351
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20

<220>

25 <223> Región variable de cadena pesada de 02-118
 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(351)
 <223>

30

35

<400> 17
 gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cat cct ggg ggg 48
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 40 1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggc tct gga ttc acc ttc agt agc tat 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 45 20 25 30

gct atg cac tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

50 tca gct att agt act ggt ggt ggc aca tac tat gca gac tcc gtg aag 192
 Ser Ala Ile Ser Thr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

55 ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gcc gtg tat tac tgt gca 288
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 60 85 90 95

agg agt gct tgg tgg ctg tcc ttt gac tcc tgg ggc cag ggc acc ctg 336
 Arg Ser Ala Trp Trp Leu Ser Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

65

gtg acc gtc tcc agc 351
 Val Thr Val Ser Ser

ES 2 378 767 T3

115

5 <210> 18
 <211> 117
 <212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Región variable de cadena pesada de 02-118
 <400> 18

20 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 1 5 10 15

25 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

35 Ser Ala Ile Ser Thr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

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

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

45 Arg Ser Ala Trp Trp Leu Ser Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

50 Val Thr Val Ser Ser
 115

55 <210> 19
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>

65 <223> Región variable de cadena ligera de 02-113, 02-114, 02-116, 02-117
 y 02-118

ES 2 378 767 T3

<220>

<221> CDS

5 <222> (1)..(330)

<223>

10

<400> 19

gac att cag atg acc cag tct cca tcc tcc ctg tct gca tct gta gga 48
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

15

gac aga gtc acc atc act tgc cgg gca agt cag agc att agc agc tac 96
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30

20

tta aat tgg tat cag cag aaa cca ggg aaa gcc cct aag ctc ctg atc 144
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

25

tat gct gca tcc agt ttg caa agt ggg gtc cca tca agg ttc agt ggc 192
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

30

agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc atc agc agt ctg caa cct 240
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

35

gaa gat ttt gca act tac tac tgt caa cag agt tac agt acc cct cca 288
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95

40

acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gag atc aaa cgg acc gtg 330
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
 100 105 110

40 <210> 20

<211> 110

45 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

50

<220>

<223> Región variable de cadena ligera de 02-113, 02-114, 02-116, 02-117
 y 02-118

55

<400> 20

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

60

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

65

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

ES 2 378 767 T3

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
5

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
10

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95
15

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
 100 105 110
20

<210> 21
 <211> 354
 <212> ADN
25 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Región variable de cadena ligera de 02-115
 <220>

35 <221> CDS
 <222> (1)..(354)
 <223>

40

<400> 21
45 tcc tcc gag ctg acc cag gac cct gct gtg tct gtg gcc ttg gga cag 48
 Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15

50 aca gtc agg atc aca tgc caa gga gac agc ctc aga agc tat tat gca 96
 Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala
 20 25 30

55 agc tgg tac cag cag aag cca gga cag gcc cct gta ctt gtc atc tat 144
 Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45

60 ggt aaa aac aac cgg ccc tca ggg atc cca gac cga ttc tct ggc tcc 192
 Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

65 agc tca gga aac aca gct tcc ttg acc atc act ggg gct cag gcg gaa 240
 Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
 65 70 75 80

gat gag gct gac tat tac tgt aac tcc cgg gac agc agt ggt aac cat 288
65 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His
 85 90 95

ES 2 378 767 T3

```

gtg gta ttc ggc gga ggg acc aag ctg acc gtc cta ggt gag tcg cgg      336
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Glu Ser Arg
          100                      105                      110

5  ccg caa gct tac cgt gct      354
   Pro Gln Ala Tyr Arg Ala
         115

10 <210>  22
    <211> 118
    <212> PRT
15 <213> Secuencia artificial

20 <220>
    <223> Región variable de cadena ligera de 02-115
    <400>  22

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

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

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

40 Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
   50           55           60

45 Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
   65           70           75           80

50 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His
   85           90           95

55 Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Glu Ser Arg
   100           105           110

   Pro Gln Ala Tyr Arg Ala
   115

60 <210>  23
    <211> 16
    <212> ADN
65 <213> Secuencia artificial

```

ES 2 378 767 T3

<220>

<223> Cebador M13rev

5 <400> 23
aacagctatg accatg 16

<210> 24

10 <211> 17

<212> ADN

15 <213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Cebador fdSeq

<400> 24
gaattttctg tatgagg 17

25 <210> 25

<211> 720

30 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

35 <220>

40 <223> Secuencia de scFv SC02-113

<220>

<221> CDS

45 <222> (1)..(720)

<223>

50 <400> 25
cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc gca gga ctg ttg aag cct tcg gag 48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

55 acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tat ggt ggg tct ttc agt ggc tac 96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

60 tac tgg agc tgg atc cgg cag ccc cca ggg aag gga ctg gag tgg att 144
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

65 ggg tat atc tat tac agt ggg agc acc aac tac aac ccc tcc ctc aag 192
Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

ES 2 378 767 T3

	agt cga gtc acc ata tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg	240
	Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu	
	65 70 75 80	
5	aag ctg agc tct gtg acc gct gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt gca	288
	Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala	
	85 90 95	
10	aag gcc cct tat atg atg tat ttt gac tcc tgg gcc caa ggt acc ctg	336
	Lys Ala Pro Tyr Met Met Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu	
	100 105 110	
15	gtc acc gtc tcg agt ggt gga ggc ggt tca ggc gga ggt gcc tct ggc	384
	Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly	
	115 120 125	
20	ggt ggc gga tcg gaa att gag ctc acc cag tct cca tcc tcc ctg tct	432
	Gly Gly Gly Ser Glu Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser	
	130 135 140	
25	gca tct gta gga gac aga gtc acc atc act tgc cgg gca agt cag agc	480
	Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser	
	145 150 155 160	
30	att agc agc tac tta aat tgg tat cag cag aaa cca ggg aaa gcc cct	528
	Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro	
	165 170 175	
35	aag ctc ctg atc tat gct gca tcc agt ttg caa agt ggg gtc cca tca	576
	Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser	
	180 185 190	
40	agg ttc agt ggc agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc atc agc	624
	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser	
	195 200 205	
45	agt ctg caa cct gaa gat ttt gca act tac tac tgt caa cag agt tac	672
	Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr	
	210 215 220	
50	agt acc cct cca acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gag atc aaa cgt	720
	Ser Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg	
	225 230 235 240	
55	<210> 26	
	<211> 240	
60	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
65	<220>	
	<223> Secuencia de scFv SC02-113	
70	<400> 26	
	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu	
	1 5 10 15	
75	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr	
	20 25 30	

ES 2 378 767 T3

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 5

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60
 10

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80
 15

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 20

Lys Ala Pro Tyr Met Met Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 25

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 115 120 125
 30

Gly Gly Gly Ser Glu Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
 130 135 140
 35

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser
 145 150 155 160
 40

Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 165 170 175
 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
 180 185 190
 50

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 195 200 205
 55

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr
 210 215 220
 60

Ser Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 225 230 235 240
 65

<210> 27
 <211> 723
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia de scFv SC02-114

ES 2 378 767 T3

```

<220>
<221> CDS
5 <222> (1)..(723)
<223>
10
<400> 27
gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg      48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
15 1                    5                    10
tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt agc tat      96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20                20                25                30
agc atg aac tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggg ctg gag tgg gtt      144
Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35                35                40                45
25 tca tac att agt agt agt agt agt acc ata tac tac gca gac tct gtg      192
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50                50                55                60
30 aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tca ctg tat      240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                70                75                80
35 ctg caa atg aac agc ctg aga gac gag gac acg gcc gtg tat tac tgt      288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85                90                95
40 gca aag gag act tgg tgg cag tcc ttt gac tac tgg ggc caa ggt acc      336
Ala Lys Glu Thr Trp Trp Gln Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100                105                110
45 ctg gtc acc gtc tcg agt ggt gga ggc ggt tca ggc gga ggt ggc tct      384
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115                120                125
50 ggc ggt ggc gga tcg gaa att gag ctc acc cag tct cca tcc tcc ctg      432
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
130                135                140
55 tct gca tct gta gga gac aga gtc acc atc act tgc cgg gca agt cag      480
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln
145                150                155                160
60 agc att agc agc tac tta aat tgg tat cag cag aaa cca ggg aaa gcc      528
Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
165                170                175
65 cct aag ctc ctg atc tat gct gca tcc agt ttg caa agt ggg gtc cca      576
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro
180                185                190
70 tca agg ttc agt ggc agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc atc      624
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
195                200                205
75 agc agt ctg caa cct gaa gat ttt gca act tac tac tgt caa cag agt      672
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser
210                215                220

```

ES 2 378 767 T3

tac agt acc cct cca acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gag atc aaa 720
 Tyr Ser Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 225 230 235 240
 5 cgt 723
 Arg
 10 <210> 28
 <211> 241
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia de scFv SC02-114
 25 <400> 28
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 30 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 35 Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 40 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 45 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 50 Ala Lys Glu Thr Trp Trp Gln Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 55 Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125
 60 Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
 130 135 140
 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln
 145 150 155 160
 65 Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala

ES 2 378 767 T3

	165	170	175
5	Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro 180 185 190		
10	Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile 195 200 205		
15	Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser 210 215 220		
20	Tyr Ser Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys 225 230 235 240		
25	Arg		
30	<210> 29 <211> 723 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
35	<220> <223> Secuencia de scFv SC02-115		
40	<400> 29 caggtgcagc tggcgcagtc tggggctgag gcaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60 tcctgcaagg cttctggata caccttcacc ggctactata tgcaactgggt gcgacaggcc 120 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180		
45	gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240 atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc aaggctgtag 300 atgccgagtt actttgacta ctggggccaa ggtaccctgg tcaccgtctc gagaggtgga 360		
50	ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggg ggcggatcgt ctgagctgac tcaggaccct 420 gctgtgtctg tggccttggg acagacagtc aggatcacat gccaaggaga cagcctcaga 480		
55	agctattatg caagctggta ccagcagaag ccaggacagg cccctgtact tgtcatctat 540 ggtaaaaaca accggccctc agggatccca gaccgattct ctggctccag ctcaggaaac 600 acagcttcct tgaccatcac tggggctcag gcggaagatg aggctgacta ttactgtaac 660		
60	tccccgggaca gcagtggtaa ccatgtggta ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 720 ggt 723		
65	<210> 30		

ES 2 378 767 T3

<211> 241
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

<220>
 10 <223> Secuencia de scFv SC02-115
 <400> 30

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

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

25 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

30 Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
 50 55 60

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

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

45 Ala Arg Ser Gln Met Pro Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

50 Leu Val Thr Val Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125

55 Gly Gly Gly Gly Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val
 130 135 140

60 Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg
 145 150 155 160

65 Ser Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val
 165 170 175

70 Leu Val Ile Tyr Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg
 180 185 190

75 Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly
 195 200 205

80 Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser

ES 2 378 767 T3

	210	215	220	
5	Ser 225	Gly Asn His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu 230	235	240
10	Gly			
15	<210>	31		
	<211>	723		
	<212>	ADN		
	<213>	Secuencia artificial		
20	<220>			
25	<223>	Secuencia de scFv SC02-116		
	<220>			
	<221>	CDS		
30	<222>	(1)..(723)		
	<223>			
35	<400>	31		
	gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg 48			
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
	1 5 10 15			
40	tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttt agc agc tat 96			
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr			
	20 25 30			
45	gcc atg agc tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggg ctg gag tgg gtc 144			
	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
	35 40 45			
50	tca gct att agt ggt agt ggt ggt agc aca tac tac gca gac tcc gtg 192			
	Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
	50 55 60			
55	aag ggc cgg ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat 240			
	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
	65 70 75 80			
60	ctg caa atg aac agc cta aga gcc gag gac acg gcc gtg tat tac tgt 288			
	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85 90 95			
65	gca aag gac gct ctt tgg ctg gct ttt gac tac tgg ggc caa ggt acc 336			
	Ala Lys Asp Ala Leu Trp Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr			
	100 105 110			
65	ctg gtc acc gtc tcg agt ggt gga ggc ggt tca ggc gga ggt ggc tct 384			
	Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser			
	115 120 125			

ES 2 378 767 T3

5	<p>ggc ggt ggc gga tcg gaa att gag ctc acc cag tct cca tcc tcc ctg 432 Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu 130 135 140</p> <p>tct gca tct gta gga gac aga gtc acc atc act tgc cgg gca agt cag 480 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln 145 150 155 160</p>
10	<p>agc att agc agc tat tta aat tgg tat cag cag aaa cca ggg aaa gcc 528 Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala 165 170 175</p>
15	<p>cct aag ctc ctg atc tat gct gca tcc agt ttg caa agt ggg gtc cca 576 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro 180 185 190</p>
20	<p>tca agg ttc agt ggc agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc atc 624 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile 195 200 205</p>
25	<p>agc agt ctg caa cct gaa gat ttt gca act tac tac tgt gct cag agg 672 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gln Arg 210 215 220</p>
30	<p>agt tat ccg cct cct aag ttc ggc caa ggg acc aag gtg gat atc aaa 720 Ser Tyr Pro Pro Pro Lys Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys 225 230 235 240</p> <p>cgt 723 Arg</p>
35	<p><210> 32</p> <p><211> 241</p>
40	<p><212> PRT</p> <p><213> Secuencia artificial</p>
45	<p><220></p> <p><223> Secuencia de scFv SC02-116</p>
50	<p><400> 32</p> <p>Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly 1 5 10 15</p>
55	<p>Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr 20 25 30</p>
60	<p>Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val 35 40 45</p>
65	<p>Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val 50 55 60</p> <p>Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr</p>

ES 2 378 767 T3

	65		70		75		80									
5	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85					90					95	
10	Ala	Lys	Asp	Ala	Leu	Trp	Leu	Ala	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
				100					105					110		
15	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
			115					120					125			
20	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Ile	Glu	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu
			130				135					140				
25	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln
						150						155				160
30	Ser	Ile	Ser	Ser	Tyr	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala
					165					170					175	
35	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Ala	Ala	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Val	Pro
				180					185					190		
40	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile
			195					200					205			
45	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Gln	Arg
			210				215					220				
50	Ser	Tyr	Pro	Pro	Pro	Lys	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Asp	Ile	Lys
						230					235					240
55	Arg															
	<210>	33														
60	<211>	720														
	<212>	ADN														
65	<213>	Secuencia artificial														
	<220>															
65	<223>	Secuencia de scFv SC02-117														
	<220>															
	<221>	CDS														
	<222>	(1)..(720)														

ES 2 378 767 T3

<223>

5 <400> 33
gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cat cct ggg ggg 48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
1 5 10 15

10 tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggc tct gga ttc acc ttc agt agc tat 96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

15 gct atg cac tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

20 tca gct att ggt act ggt ggt ggc aca tac tat gca gac tcc gtg aag 192
Ser Ala Ile Gly Thr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

25 ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

30 caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gcc gtg tat tac tgt gca 288
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

35 agg tct acg cct tgg ttt tcc ttt gac tac tgg ggc caa ggt acc ctg 336
Arg Ser Thr Pro Trp Phe Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

40 gtc acc gtc tcg agt ggt gga ggc ggt tca ggc gga ggt ggc tct ggc 384
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

45 ggt ggc gga tcg gaa att gag ctc acc cag tct cca tcc tcc ctg tct 432
Gly Gly Gly Ser Glu Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
130 135 140

50 gca tct gta gga gac aga gtc acc atc act tgc cgg gca agt cag agc 480
Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser
145 150 155 160

55 att agc agc tac tta aat tgg tat cag cag aaa cca ggg aaa gcc cct 528
Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
165 170 175

60 aag ctc ctg atc tat gct gca tcc agt ttg caa agt ggg gtc cca tca 576
Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
180 185 190

65 agg ttc agt ggc agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc atc agc 624
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
195 200 205

70 agt ctg caa cct gaa gat ttt gca act tac tac tgt caa cag agt tac 672
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr
210 215 220

75 agt acc cct cca acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gag atc aaa cgt 720
Ser Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
225 230 235 240

ES 2 378 767 T3

<210> 34
 <211> 240
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Secuencia de scFv SC02-117
 15 <400> 34
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 20 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 25 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 30 Ser Ala Ile Gly Thr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 35 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 40 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 45 Arg Ser Thr Pro Trp Phe Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 50 Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 115 120 125
 55 Gly Gly Gly Ser Glu Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
 130 135 140
 60 Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser
 145 150 155 160
 65 Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 165 170 175
 70 Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
 180 185 190
 75 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 195 200 205

ES 2 378 767 T3

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr
 210 215 220

5

Ser Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 225 230 235 240

10 <210> 35

<211> 720

<212> ADN

15

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Secuencia de scFv SC02-118

<400> 35

25 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc taggtacatc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag gctctggatt caccttcagt agctatgcta tgactgggt tcgccaggct 120

ccaggaaaag gtctggagtg ggtatcagct attagtactg gtggtggcac atactatgca 180

30

gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaactc cttgtatctt 240

caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtgtatt actgtgcaag gactgcttgg 300

35

tggctgtcct ttgactcctg gggccaaggt accctggta cctctcagag tgggtggaggc 360

ggttcaggcg gaggtggctc tggcgggtggc ggatcggaaa ttgagctcac ccagtctcca 420

40

tcctccctgt ctgcatctgt aggagacaga gtcaccatca cttgccgggc aagtcagagc 480

attagcagct acttaaattg gtatcagcag aaaccagga aagcccctaa gtcctgac 540

tatgctgcat ccagtttgca aagtggggtc ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg 600

45

acagatttca ctctcaccat cagcagtctg caacctgaag attttgcaac ttactactgt 660

caacagagtt acagtacccc tccaacgttc ggccaagga ccaaggtgga gatcaaacgt 720

50 <210> 36

<211> 240

<212> PRT

55

<213> Secuencia artificial

60 <220>

<223> Secuencia de scFv SC02-118

<400> 36

65

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Gln Val His Pro Gly Gly
 1 5 10 15

ES 2 378 767 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
5

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
10

Ser Ala Ile Ser Thr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
15

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
20

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
25

Arg Ser Ala Trp Trp Leu Ser Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
30

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
 115 120 125
35

Gly Gly Gly Ser Glu Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
 130 135 140
40

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser
 145 150 155 160
45

Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 165 170 175
50

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
 180 185 190
55

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 195 200 205
60

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr
 210 215 220
65

Ser Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 225 230 235 240

60 <210> 37
 <211> 6778
 <212> ADN
65 <213> Secuencia artificial

ES 2 378 767 T3

<220>

5 <223> pSyn-C03-HCgamma1

<400> 37

	gacggatcgg	gagatctccc	gatcccctat	ggtgcactct	cagtacaatc	tgctctgatg	60
10	ccgcatagtt	aagccagtat	ctgctccctg	cttgtgtggt	ggaggtcgct	gagtagtgcg	120
	cgagcaaaat	ttaagctaca	acaaggcaag	gcttgaccga	caattgcatg	aagaatctgc	180
15	ttagggttag	gcgttttgcg	ctgcttcgct	agtggtcaa	tattggccat	tagccatatt	240
	attcattggt	tatatagcat	aatcaatat	tggctattgg	ccattgcata	cgttgtatcc	300
	atatcataat	atgtacattt	atattggctc	atgtccaaca	ttaccgccat	gttgacattg	360
20	attattgact	agttattaat	agtaatcaat	tacggggcca	ttagttcata	gcccataat	420
	ggagtccgc	gttacataac	ttacggtaaa	tggcccgcct	ggctgaccgc	ccaacgacc	480
25	ccgcccattg	acgtcaataa	tgacgtatgt	tcccatagta	acgccaatag	ggactttcca	540
	ttgacgtcaa	tgggtggagt	atttacggta	aactgcccac	ttggcagtac	atcaagtgta	600
	tcatatgcca	agtacgcccc	ctattgacgt	caatgacggt	aatggccccg	cctggcatta	660
30	tgcccagtac	atgaccttat	gggactttcc	tacttggcag	tacatctacg	tattagtcac	720
	cgctattacc	atggtgatgc	ggttttgcca	gtacatcaat	gggcgtggat	agcggtttga	780
	ctcacgggga	tttccaagtc	tccaccccat	tgacgtcaat	gggagtttgt	tttggcacca	840
35	aatcaacgg	gactttccaa	aatgtcgtaa	caactccgcc	ccattgacgc	aatgggcccg	900
	taggcgtgta	cgggtggagg	tctatataag	cagagctcgt	ttagtgaacc	gtcagatcgc	960
40	ctggagacgc	catccacgct	gttttgacct	ccatagaaga	caccgggacc	gatccagcct	1020
	ccgcggccgg	gaacggtgca	ttggaagctg	gcctggatgg	cctgactctc	ttaggtagcc	1080
45	ttgcagaagt	tggctcgtgag	gcactgggca	ggtaagtatc	aaggttacaa	gacaggttta	1140
	aggagatcaa	tagaaactgg	gcttgtcgag	acagagaaga	ctcttgcggt	tctgataggg	1200
	acctattggt	cttactgaca	tccactttgc	ctttctctcc	acaggtgtcc	actcccagtt	1260
50	caattacagc	tcgccaccat	ggcctgcccc	ggcttctcgt	gggccctggt	gatcagcacc	1320
	tgcttggaat	tcagcatgag	cagcgttagc	accaagggcc	ccagcgtggt	ccccctggcc	1380
55	cccagcagca	agagcaccag	cggcggcaca	gccgccctgg	gctgcctggt	gaaggactac	1440
	ttccccgagc	ccgtgaccgt	gagctggaac	agcggcgcct	tgaccagcgg	cgtgcacacc	1500
	ttccccgccg	tgetgcagag	cagcggcctg	tacagcctga	gcagcgtggt	gaccgtgccc	1560
60	agcagcagcc	tgggcaccca	gacctacatc	tgcaacgtga	accacaagcc	cagcaacacc	1620
	aaggtggaca	aacgcgtgga	gcccagagc	tgcgacaaga	cccacacctg	ccccccctgc	1680
65	cctgcccccg	agetgctggg	cggaccctcc	gtgttctcgt	tccccccaa	gcccaggac	1740
	accctcatga	tcagccggac	ccccgaggtg	acctgcgtgg	tgggtggacgt	gagccacgag	1800

ES 2 378 767 T3

	gacccccgagg tgaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcacaa cgccaagacc	1860
	aagccccggg aggagcagta caacagcacc taccgggtgg tgagcgtgct caccgtgctg	1920
5	caccaggact ggctgaacgg caaggagtac aagtgcaagg tgagcaacaa ggcctgct	1980
	gccccatcg agaagacat cagcaaggcc aagggccagc cccgggagcc ccaggtgtac	2040
10	accctgcccc ccagccggga ggagatgacc aagaaccagg tgtccctcac ctgtctgggtg	2100
	aagggttctt accccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaacggcca gcccgagaac	2160
	aactacaaga ccaccccc tgtgctggac agcgacggca gcttcttctt gtacagcaag	2220
15	ctcaccgtgg acaagagccg gtggcagcag ggcaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac	2280
	gaggccctgc acaaccacta caccagaag agcctgagcc tgagccccgg caagtataa	2340
20	tctagagggc ccgtttaaac ccgctgatca gcctcgactg tgccttctag ttgccagcca	2400
	tctgttgttt gccctcccc cgtgccttcc ttgacctgg aaggtgccac tcccactgtc	2460
	ctttcctaataaaaatgagga aattgcatcg cattgtctga gtagggtgtca ttctattctg	2520
25	gggggtgggg tggggcagga cagcaagggg gaggattggg aagacaatag caggcatgct	2580
	ggggatgcgg tgggctctat ggcttctgag gcggaagaa ccagctgggg ctctaggggg	2640
30	tatccccacg cgccctgtag cggcgcatta agcgcggcgg gtgtgggtgt tacgcgcagc	2700
	gtgaccgcta cacttgccag cgccctagcg cccgctcctt tcgctttctt cccttccttt	2760
	ctcgccacgt tcgccgctt tccccgtaa gctctaaatc gggggctccc tttagggttc	2820
35	cgatttagtg ctttacggca cctcgacccc aaaaaacttg attaggtgta tggttcacgt	2880
	agtgggccaat cgccctgata gacggttttt cgccctttga cgttgagtc cacgttcttt	2940
40	aatagtggac tcttgttcca aactggaaca aactcaacc ctatctcggc ctattctttt	3000
	gatttataag ggattttgcc gatttcggcc tatttggttaa aaaatgagct gatttaacaa	3060
	aaatttaacg cgaattaatt ctgtggaatg tgtgtcagtt aggggtgtgga aagtccccag	3120
45	gctccccagc aggcagaagt atgcaaagca tgcatctcaa ttagtcagca accaggtgtg	3180
	gaaagtcccc aggctcccc gcaggcagaa gtatgcaaag catgcatctc aattagtcag	3240
50	caaccatagt cccgccccta actccgccca tcccgccct aactccgcc agttccgcc	3300
	attctccgcc ccatggctga ctaatTTTTT ttatttatgc agaggccgag gccgcctctg	3360
	cctctgagct attccagaag tagtgaggag gcttttttgg aggcctaggc ttttgcaaaa	3420
55	agctcccggg agcttgata tccatTTTctg gatctgatca agagacagga tgaggatcgt	3480
	ttcgcgatgat tgaacaagat ggattgcacg caggttctcc ggccgcttgg gtggagaggc	3540
60	tattcggcta tgactgggca caacagacaa tcggctgctc tgatgccgcc gtgttccggc	3600
	tgtcagcgca ggggcgccc gttctTTTTg tcaagaccga cctgtccggt gccctgaatg	3660
	aactgcagga cgaggcagcg cggctatcgt ggctggccac gacgggcggt ccttgccgag	3720
65	ctgtgctoga cgttgtcact gaagcgggaa gggactggct gctattgggc gaagtgccgg	3780
	ggcaggatct cctgtcatct caccttgctc ctgccagaaa agtatccatc atggctgatg	3840

ES 2 378 767 T3

caatgcgggcg gctgcatacg cttgatccgg ctacctgccc attcgaccac caagcgaaac 3900
 5 atcgcatcga gcgagcacgt actcggatgg aagccggctct tgtcgatcag gatgatctgg 3960
 acgaagagca tcaggggctc gcgccagccg aactgttcgc caggctcaag gcgcgcatgc 4020
 ccgacggcga ggatctcgtc gtgacccatg gcgatgcctg cttgccgaat atcatgggtg 4080
 10 aaaatggccg cttttctgga ttcacogact gtggccggct ggggtgtggcg gatcgctatc 4140
 aggacatagc gttggctacc cgtgatattg ctgaagagct tggcggcgaa tgggctgacc 4200
 15 gcttcctcgt gctttacggg atcgccgctc ccgattcgca gcgcatcgcc ttctatcgcc 4260
 ttcttgacga gttcttctga gcgggactct ggggttcgaa atgaccgacc aagcgacgcc 4320
 caacctgcca tcacgagatt tcgattccac cgccgccttc tatgaaaggt tgggcttcgg 4380
 20 aatcgttttc cgggacgccg gctggatgat cctccagcgc ggggatctca tgcctggagtt 4440
 cttcgccac cccaacttgt ttattgcagc ttataatggt tacaataaa gcaatagcat 4500
 25 caciaatttc acaaataaag catttttttc actgcattct agttgtgggt tgcctaaact 4560
 catcaatgta tcttatcatg tctgtatacc gtcgacctct agctagagct tggcgtaatc 4620
 atggtcatag ctgtttcctg tgtgaaattg ttatccgctc acaattccac acaacatacg 4680
 30 agccggaagc ataaagtga aagcctgggg tgcctaataga gtgagctaac tcacattaat 4740
 tgcgttgccg tcaactgccc ctttccagtc gggaaacctg tcgtgccagc tgcattaatg 4800
 35 aatcggccaa gcgcggggga gaggcggtt gcgtattggg cgctcttccg cttcctcgtc 4860
 cactgactcg ctgcgctcgg tcgttcggct gcggcgagcg gtatcagctc actcaaaggc 4920
 ggtaatacgg ttatccacag aatcagggga taacgcagga aagaacatgt gagcaaaagg 4980
 40 ccagcaaaag gccaggaacc gtaaaaaggc cgcgttgctg gcgtttttcc ataggctccg 5040
 cccccctgac gagcatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag aggtggcgaa acccgacagg 5100
 45 actataaaga taccaggcgt ttccccctgg aagctccctc gtgcgctctc ctgttccgac 5160
 cctgccgctt accggatacc tgtccgcctt tctcccttcg ggaagcgtgg cgctttctca 5220
 tagctcagc tgtaggtatc tcagttcggg gtaggtcggt cgctccaagc tgggctgtgt 5280
 50 gcacgaacc cccgttcagc ccgaccgctg cgccttatcc ggtaactatc gtcttgagtc 5340
 caaccggta agacacgact tatcgccact ggacgagcc actggtaaca ggattagcag 5400
 55 agcgaggtat gtaggcggtg ctacagagtt cttgaagtgg tggcctaact acggctacac 5460
 tagaagaaca gtatttggtg tctgcgctct gctgaagcca gttaccttcg gaaaaagagt 5520
 tggtagctct tgatccggca aacaaaccac cgctggtagc ggtttttttg tttgcaagca 5580
 60 gcagattacg cgagaaaaa aaggatctca agaagatcct ttgatctttt ctacggggctc 5640
 tgacgctcag tggaacgaaa actcacgtta agggattttg gtcatgagat tatcaaaaag 5700
 gatcttcacc tagatccttt taaattaa atgaagtttt aaatcaatct aaagtatata 5760
 65 tgagtaaaact tggctcgaca gttaccaatg cttaatcagt gaggcaccta tctcagcgat 5820

ES 2 378 767 T3

ctgtctatatt cgttcatcca tagttgcctg actccccgtc gtgtagataa ctacgatacg 5880
 ggagggctta ccactctggcc ccagtctctg aatgataccg cgagaccac gctcaccggc 5940
 5 tccagattta tcagcaataa accagccagc cgggaagggcc gagcgcagaa gtggtcctgc 6000
 aactttatcc gcctccatcc agtctattaa ttgttgccgg gaagctagag taagtagttc 6060
 10 gccagttaat agtttgccga acgttgctgc cattgctaca ggcatcgtgg tgcacgctc 6120
 gtcgtttggg atggcttcat tcagctccgg ttccaacga tcaaggcgag ttacatgatc 6180
 ccccatggtg tgcaaaaaag cggtagctc cttcggctct ccgatcgttg tcagaagtaa 6240
 15 gttggccgca gtgttatcac tcatggttat ggcagcactg cataattctc ttactgtcat 6300
 gccatccgta agatgctttt ctgtgactgg tgagtactca accaagtcac tctgagaata 6360
 20 gtgtatgagg cgaccgagtt gctcttgccc ggcgtcaata cgggataata ccgcgccaca 6420
 tagcagaact ttaaaagtgc tcatcattgg aaaacgttct tcggggcgaa aactctcaag 6480
 gatcttaccg ctgttgagat ccagttcgat gtaaccact cgtgcacca actgatcttc 6540
 25 agcatctttt actttcacca gcgtttctgg gtgagcaaaa acaggaaggc aaaatgccgc 6600
 aaaaaagga ataagggcga cacggaaatg ttgaatactc atactcttcc tttttcaata 6660
 30 ttattgaagc atttatcagg gttattgtct catgagcgga tacatatttg aatgtattta 6720
 gaaaaataaa caaatagggg ttccgcgcac atttccccga aaagtgccac ctgacgtc 6778

 <210> 38
 35 <211> 6267
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia artificial

 <220>
 45 <223> pSyn-C05-Ckappa

 <400> 38
 50 gacggatcgg gagatctccc gatcccctat ggtgcaactc cagtacaatc tgctctgatg 60
 ccgcatagtt aagccagtat ctgctccctg cttgtgtggt ggaggctcgt gagtagtgcg 120
 cgagcaaaat ttaagctaca acaaggcaag gcttgaccga caattgtaa ttaacatgaa 180
 55 gaatctgctt agggttaggc gttttgcgct gcttcgctag gtggtcaata ttggccatta 240
 gccatattat tcattgggta tatagcataa atcaatattg gctattggcc attgcatacg 300
 60 ttgtatccat atcataatat gtacatttat attggctcat gtccaacatt accgccatgt 360
 tgacattgat tattgactag ttattaatag taatcaatta cggggtcatt agttcatagc 420
 ccataatagg agttccgcgt tacataactt acggtaaatt gcccgctgg ctgaccgccc 480
 65 aacgaccccc gccattgac gtcaataatg acgtatgttc ccatagtaac gccaataggg 540
 actttccatt gacgtcaatg ggtggagtat ttacggtaaa ctgccactt ggtagtacat 600

ES 2 378 767 T3

	caagtgtatc atatgccaaag tacgccccct attgacgtca atgacggtaa atggccccgc	660
5	tggcattatg cccagtacat gaccttatgg gactttocta cttggcagta catctacgta	720
	ttagtcatcg ctattaccat ggtgatgcgg ttttggcagt acatcaatgg gcgtggatag	780
	cggtttgact cacggggatt tccaagtctc caccccattg acgtcaatgg gagtttgttt	840
10	tggcaccaaa atcaacggga ctttccaaaa tgtcgtaaaca actccgcccc attgacgcaa	900
	atgggcggtg ggcgtgtacg gtgggaggtc tatataagca gagctcgttt agtgaaccgt	960
15	cagatcgctt ggagacgcca tccacgctgt tttgacctc atagaagaca ccgggaccga	1020
	tccagcctcc gcggccggga acggtgcatt ggaatcgatg actctcttag gtagccttgc	1080
	agaagtgggt cgtgaggcac tgggcaggta agtatcaagg ttacaagaca ggtttaagga	1140
20	gatcaataga aactgggctt gtcgagacag agaagactct tgcgtttctg ataggcacct	1200
	attggtctta ctgacatcca ctttgctttt ctctccacag gtgtccactc ccagttcaat	1260
25	tacagctcgc caccatggcc tgccccggtt tcctgtgggc cctggtgatc agcacctgcc	1320
	tcgagttcag cggccctaag cggaccgtgg ccgctcccag cgtgttcacg ttccccctt	1380
	ccgacgagca gctgaagagc ggcaccgcca gcgtggtgtg cctgctgaac aacttctacc	1440
30	cccgggaggc caaggtgcag tggaaagggtg acaacgcctt gcagagcggc aacagccagg	1500
	agagcgtgac cgagcaggac agcaaggact ccacctacag cctgagcagc accctcacc	1560
35	tgagcaaggc cgactacgag aagcacaagg tgtacgcctg cgaggtgacc caccagggcc	1620
	tgagcagccc cgtgaccaag agcttcaacc gggcgagtg ttaatagact taagtthaaa	1680
	ccgctgatca gcctcgactg tgcttctag ttgccagcca tctgttgttt gcccctcccc	1740
40	cgtgccttcc ttgacctgg aaggtgccac tcccactgtc ctttcctaataaaaatgagga	1800
	aattgcatcg cattgtctga gtaggtgtca ttctattctg gggggtgggg tggggcagga	1860
45	cagcaagggg gaggattggg aagacaatag caggcatgct ggggatgcgg tgggctctat	1920
	ggcttctgag gcgaaagaa ccagctgggg ctctaggggg tatccccacg gcacctgtag	1980
	cggcgcatta agcgcggcgg gtgtggtgggt tacgcgcagc gtgaccgcta cacttgccag	2040
50	cgccctagcg cccgctcctt tcgctttctt cccttccttt ctcgccacgt tcgccggctt	2100
	tccccgtcaa gctctaaatc gggggctccc tttagggttc cgatttagtg ctttacggca	2160
55	cctcgacccc aaaaaacttg attaggggtg tggttcacgt agtgggcat cgccctgata	2220
	gacggttttt cgcccttga cgttgagtc cacgttcttt aatagtgac tcttgttcca	2280
	aactggaaca aactcaacc ctatctcgggt ctattctttt gatttataag ggattttggc	2340
60	catttcggcc tattggttaa aaaatgagct gatttaacaa aaatttaacg cgaattaatt	2400
	ctgtggaatg tgtgtcagtt aggtgtgga aagccccag gctccccagc aggcagaagt	2460
65	atgcaaagca tgcattctca ttagtcagca accaggtgtg gaaagtcccc aggcctccca	2520
	gcaggcagaa gtatgcaaag catgcatctc aatagtcag caaccatagt cccgcccta	2580

ES 2 378 767 T3

actccgcca tcccgccct aactccgcc agttccgcc attctccgc ccatggctga 2640
 ctaatTTTTT ttatttatgc agaggccgag gccgcctctg cctctgagct attccagaag 2700
 5 tagtgaggag gctTTTTTgg aggcctaggc ttttgcaaaa agctcccggg agcttgtata 2760
 tccatTTTtc gatctgatca gcacgtgatg aaaaagcctg aactcaccgc gacgtctgtc 2820
 10 gagaagTTTc tgatcgaaaa gttcgacagc gtctccgacc tgatgcagct ctccgagggc 2880
 gaagaatctc gtgctTTTcag cttcgatgta ggagggcgtg gatatgtcct gcgggtaaat 2940
 agctgcgccg atggtTTTcta caaagatcgt tatgTTTatc ggactTTTgc atcggccgcg 3000
 15 ctcccgattc cggaaagtgt tgacattggg gaattcagcg agagcctgac ctattgcatc 3060
 tcccgccgtg cacagggTgt cacgttgcaa gacctgcctg aaaccgaact gcccgctgtt 3120
 ctgcagccgg tcgaggaggc catggatgcg atcgtgcgg ccgatcttag ccagacgagc 3180
 20 gggTtcggcc cattccgacc acaaggaatc ggtcaataca ctacatggcg tgatttcata 3240
 tgccgagatt ctgatcccca tgtgtatcac tggcaactg tgatggacga caccgtcagt 3300
 25 gcgtccgtcg cgcaggctct cgatgagctg atgctTTTggg ccgaggactg ccccgaagtc 3360
 cggcacctcg tgcacgcgga tttcggctcc aacaatgtcc tgacggacaa tggccgcata 3420
 acagcggTca ttgactggag cgaggcgatg ttcggggatt cccaatacga ggtcgccaac 3480
 30 atcttcttct ggaggccgtg gttggctTgt atggagcagc agacgcgcta cttcgagcgg 3540
 aggcacccgg agcttgcagg atcgcgcgg ctccggcgt atatgctccg cattggctct 3600
 35 gaccaactct atcagagctt ggttgacggc aatttcgatg atgcagctt ggccgagggT 3660
 cgatgcgacg caatcgtccg atccggagcc gggactgtcg ggcgtacaca aatcgcccgc 3720
 agaagcgcgg ccgtctggac cgatggctgt gtagaagtac tcgccgatag tggaaccga 3780
 40 cgcgccagca ctcgtccgag ggcaaaggaa tagcacgtgc tacgagatt cgattccacc 3840
 gccgccttct atgaaaggTt gggcttcgga atcgtTTTcc gggacgcgg ctggatgatc 3900
 45 ctccagcgcg gggatctcat gctggagTtc ttcgccacc ccaactTgtt tattgcagct 3960
 tataatggTt acaataaag caatagcatc acaattTca caataaagc atTTTTTca 4020
 50 ctgcattcta gttgtggTtt gtccaaactc atcaatgtat cttatcatgt ctgtataccg 4080
 tcgacctcta gctagagctt ggcgtaatca tggTcatagc tgtttcctgt gtgaaattgt 4140
 tatccgctca caatccaca caacatacga gccggaagca taaagtgtaa agcctggggT 4200
 55 gcctaagTgag tgagctaact cacattaatt gcgttgcgct cactgcccgc tttccagTcg 4260
 ggaaacctgt cgtgccagct gcattaatga atcgccaac gcgcggggag aggcggTttg 4320
 60 cgtattgggc gctctccgc ttctcgctc actgactcgc tgcgctcggT cgttcggctg 4380
 cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggT tatccacaga atcaggggat 4440
 aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc 4500
 65 gcgttgtgTg cgtTTTTcca taggctccgc cccctgacg agcatcacia aatcgacgc 4560
 tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt tcccctgga 4620

ES 2 378 767 T3

	agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct gtccgccttt	4680
5	ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct cagttcgggtg	4740
	taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc	4800
	gccttatccg gtaactatcg tcttgagtc aaccggtaa gacacgactt atcgccactg	4860
10	gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc	4920
	ttgaagtggg ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggat ctgcgctctg	4980
15	ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc	5040
	gctggtagcg gttttttgt ttgaagcag cagattacgc gcagaaaaaa aggatctcaa	5100
	gaagatcctt tgatcttttc tacggggtct gacgctcagt ggaacgaaaa ctcacgtaa	5160
20	gggattttgg tcatgagatt atcaaaaagg atcttcacct agatcctttt aaattaaaaa	5220
	tgaagtttta aatcaatcta aagtatatat gagtaaactt ggtctgacag ttaccaatgc	5280
25	ttaatcagtg aggcacctat ctacgcatc tgtctatttc gttcatccat agttgcctga	5340
	ctccccgctg ttagataaac tacgatacgg gagggcttac catctggccc cagtgctgca	5400
	atgataaccg gagaccacg ctaccggct ccagatttat cagcaataaa ccagccagcc	5460
30	ggaagggccg agcgcagaag tggctctgca actttatccg cctccatcca gtctattaat	5520
	tgttgccggg aagctagagt aagtagttcg ccagttaata gtttgcgcaa cgttgttgcc	5580
35	attgctacag gcatcgtggg gtcacgctcg tcgtttggta tggcttcatt cagctccggt	5640
	tccaacgat caagcgagt tacatgatcc cccatgttgt gcaaaaagc ggtagctcc	5700
	ttcggtcctc cgatcgttgt cagaagtaag ttggccgag tgttatcact catggttatg	5760
40	gcagcactgc ataattctct tactgtcatg ccataccgtaa gatgcttttc tgtgactggt	5820
	gagtactcaa ccaagtcatt ctgagaatag tgtatgccc gaccgagttg ctcttgcccg	5880
45	gcgtcaatac gggataatac cgcgccacat agcagaactt taaaagtgct catcattgga	5940
	aaacgttctt cggggcgaaa actctcaagg atcttaccgc tgttgagatc cagttcogatg	6000
	taaccctc gtgcaccaa ctgatcttca gcatctttta ctttcaccag cgtttctggg	6060
50	tgagcaaaaa caggaaggca aatgcccga aaaaaggaa taagggcgac acggaaatgt	6120
	tgaatactca tactcttct tttcaatat tattgaagca tttatcaggg ttattgtctc	6180
55	atgagcggat acatatttga atgtatttag aaaaataaac aaataggggt tccgcgcaca	6240
	tttccccgaa aagtgccacc tgacgtc	6267
60	<210> 39	
	<211> 6283	
	<212> ADN	
65	<213> Secuencia artificial	

ES 2 378 767 T3

<220>

5 <223> pSyn-C04-Clambda

<400> 39

	gacggatcgg	gagatctccc	gatcccctat	ggtgcactct	cagtacaatc	tgctctgatg	60
10	ccgcatagtt	aagccagtat	ctgctccctg	cttgtgtggt	ggaggtcgct	gagtagtgcg	120
	cgagcaaaat	ttaagctaca	acaaggcaag	gcttgaccga	caattgtaa	ttaacatgaa	180
15	gaatctgctt	agggttaggc	gttttgcgct	gcttcgctag	gtggtcaata	ttggccatta	240
	gccatattat	tcattgggta	tatagcataa	atcaatattg	gctattggcc	attgcatagc	300
	ttgtatccat	atcataatat	gtacatttat	attggctcat	gtccaacatt	accgcatgt	360
20	tgacattgat	tattgactag	ttattaatag	taatcaatta	cggggtcatt	agttcatagc	420
	ccatatatgg	agttccgogt	tacataactt	acggtaaattg	gcccgcctgg	ctgaccgccc	480
25	aacgaccccc	gccattgac	gtcaataatg	acgtatgttc	ccatagtaac	gccaataggg	540
	actttccatt	gacgtcaatg	ggtggagtat	ttacggtaaa	ctgcccactt	ggcagtacat	600
	caagtgtatc	atatgccaa	tacgccccct	attgacgtca	atgacggtaa	atggcccgcc	660
30	tggcattatg	cccagtacat	gaccttatgg	gactttocta	cttggcagta	catctacgta	720
	ttagtcatcg	ctattacat	ggtgatgogg	ttttggcagt	acatcaatgg	gcgtggatag	780
	cggtttgact	cacggggatt	tccaagtctc	caccccattg	acgtcaatgg	gagtttgttt	840
35	tggcaccaaa	atcaacggga	ctttccaaaa	tgtcgtaaaca	actccgcccc	attgacgcaa	900
	atgggcggtg	ggcgtgtacg	gtgggaggtc	tatataagca	gagctcgttt	agtgaaccgt	960
40	cagatcgctt	ggagacgcca	tccacgctgt	tttgacctcc	atagaagaca	ccgggaccga	1020
	tccagcctcc	gcgccgggga	acggtgcatt	ggaatcgatg	actctcttag	gtagccttgc	1080
45	agaagtgggt	cgtgaggcac	tgggcaggta	agtatcaagg	ttacaagaca	ggtttaagga	1140
	gatcaataga	aactgggctt	gtcgagacag	agaagactct	tgcgtttctg	ataggcacct	1200
	attggtctta	ctgacatcca	ctttgccttt	ctctccacag	gtgtccactc	ccagttcaat	1260
50	tacagctogc	caccatggcc	tgccccggct	tcctgtgggc	cctggtgatc	agcacctgcc	1320
	tcgagatccc	cggaccgogg	ccgcaagctt	accgtgctgg	gccagcccaa	ggccgctccc	1380
55	agcgtgacc	tgttcccccc	ctctccgag	gagctgcagg	ccaacaaggc	caccctgggtg	1440
	tgctcatca	gcgacttcta	ccctggcgcc	gtgaccgtgg	cctggaaggc	cgacagcagc	1500
	cccgtgaagg	ccggcgtgga	gaccaccacc	cccagcaagc	agagcaaaaa	caagtacgcc	1560
60	gccagcagct	acctgagcct	cacccccgag	cagtgggaaga	gccaccggag	ctacagctgc	1620
	caggtgacc	acgagggcag	caccgtggag	aagaccgtgg	ccccaccga	gtgcagctaa	1680
	tagacttaag	tttaaaccgc	tgatcagcct	cgactgtgcc	ttctagttgc	cagccatctg	1740
65	ttgtttgccc	ctccccogtg	ccttccttga	cctggaagg	tgccactccc	actgtccttt	1800

ES 2 378 767 T3

	cctaataaaa	tgaggaaatt	gcatcgcatt	gtctgagtag	gtgtcattct	attctggggg	1860
	gtggggtggg	gcaggacagc	aagggggagg	attgggaaga	caatagcagg	catgctgggg	1920
5	atgcggtggg	ctctatggct	tctgaggcgg	aaagaaccag	ctggggctct	agggggtatc	1980
	cccacgcgcc	ctgtagcggc	gcattaagcg	cggcgggtgt	ggtggttacg	cgcagcgtga	2040
10	ccgctacact	tgccagcgcc	ctagcgcocg	ctcctttcgc	tttcttcocct	tcctttctcg	2100
	ccacgttcgc	cggctttccc	cgtaagctc	taaactcggg	gctcccttta	gggttccgat	2160
	ttagtgcttt	acggcacctc	gaccccaaaa	aacttgatta	gggtgatggg	tcacgtagtg	2220
15	ggccatcgcc	ctgatagacg	gtttttcgcc	ctttgacggt	ggagtccacg	ttctttaata	2280
	gtggactcct	gttccaaact	ggaacaacac	tcaaccctat	ctcggctctat	tcttttgatt	2340
20	tataagggat	tttgccatt	tcggcctatt	ggttaaaaaa	tgagctgatt	taacaaaaat	2400
	ttaacgcgaa	ttaattctgt	ggaatgtgtg	tcagttaggg	tgtggaaagt	cccaggctc	2460
	cccagcaggc	agaagtatgc	aaagcatgca	tctcaattag	tcagcaacca	ggtgtggaaa	2520
25	gtccccaggc	tccccagcag	gcagaagtat	gcaaagcatg	catctcaatt	agtcagcaac	2580
	catagtcccg	ccctaactc	cgcccatccc	gcccctaact	ccgcccagtt	ccgcccattc	2640
30	tccgccccat	ggctgactaa	ttttttttat	ttatgcagag	gccgaggccg	cctctgcctc	2700
	tgagctattc	cagaagtagt	gaggaggcct	ttttggaggc	ctaggctttt	gcaaaaagct	2760
	cccgggagct	tgtatatcca	ttttcggatc	tgatcagcac	gtgatgaaaa	agcctgaact	2820
35	caccgcgacg	tctgtcgaga	agtttctgat	cgaaaagttc	gacagcgtct	ccgacctgat	2880
	gcagctctcg	gagggcgaag	aatctcgtgc	tttcagcttc	gatgtaggag	ggcgtggata	2940
40	tgtcctgogg	gtaaatagct	gcgccgatgg	tttctacaaa	gatcgttatg	tttatcggca	3000
	ctttgcatcg	gccgcgctcc	cgattccgga	agtgtctgac	attggggaat	tcagcgagag	3060
	cctgacctat	tgcatctccc	gccgtgcaca	gggtgtcacg	ttgcaagacc	tgctgaaac	3120
45	cgaactgccc	gctgttctgc	agccggtcgc	ggaggccatg	gatgcgatcg	ctgcggccga	3180
	tcttagccag	acgagcgggt	tcggcccatt	cggaccgcaa	ggaatcggtc	aatacactac	3240
50	atggcgtgat	ttcatatgcg	cgattgctga	tccccatgtg	tatcactggc	aaactgtgat	3300
	ggacgacacc	gtcagtgcgt	ccgtcgcgca	ggctctcgat	gagctgatgc	tttgggcccga	3360
	ggactgcccc	gaagtccggc	acctcgtgca	cgcggatttc	ggctccaaca	atgtcctgac	3420
55	ggacaatggc	cgcataacag	cggtcattga	ctggagcggg	gcatgttctg	gggattccca	3480
	atacagggtc	gccaacatct	tcttctggag	gccgtggttg	gcttgtatgg	agcagcagac	3540
60	gcgctacttc	gagcggaggc	atccggagct	tgaggatcg	ccgcggctcc	ggcgtatat	3600
	gctccgcatt	ggtcttgacc	aactctatca	gagcttgggt	gacggcaatt	tcgatgatgc	3660
	agcttgggcg	cagggtcgat	gcgacgcaat	cgcccgatcc	ggagccggga	ctgtcgggcg	3720
65	tacacaaatc	gcccgcagaa	gcgcggccgt	ctggaccgat	ggctgtgtag	aagtactcgc	3780
	cgatagtgga	aaccgacgcc	ccagcactcg	tccgagggca	aaggaatagc	acgtgctacg	3840

ES 2 378 767 T3

agatttcgat tccaccgccg ccttctatga aaggttgggc ttcggaatcg ttttccggga 3900
 5 cgccggctgg atgacctcc agcgcgggga tctcatgctg gagttcttcg cccaccccaa 3960
 cttgtttatt gcagcttata atggttacia ataaagcaat agcatcacia atttcacaaa 4020
 taaagcattt ttttactgc attctagttg tggtttgctc aaactcatca atgtatctta 4080
 10 tcatgtctgt ataccgtcga cctctagcta gagcttggcg taatcatggt catagctggt 4140
 tcctgtgtga aattgttatc cgctcacaat tccacacaa acacgagccg gaagcataaa 4200
 15 gtgtaaagcc tggggtgcct aatgagtgag ctaactcaca ttaattgctg tgcgctcact 4260
 gcccgctttc cagtcgggaa acctgtcgtg ccagctgcat taatgaatcg gccaacgcgc 4320
 ggggagaggg ggtttgcgta ttgggcgctc ttccgcttcc tcgctcactg actcgctgcg 4380
 20 ctccgctggt cggctgcggc gagcggatc agctcactca aaggcggtaa tacggttatc 4440
 cacagaatca ggggataacg caggaaagaa catgtgagca aaaggccagc aaaaggccag 4500
 25 gaaccgtaaa aaggccgctg tgctggcgtt tttccatagg ctccgcccc ctgacgagca 4560
 tcacaaaaat cgacgctcaa gtcagaggtg gcgaaaccg acaggactat aaagatacca 4620
 ggcgtttccc cctggaagct cctcgtgcg ctctcctggt ccgaccctgc cgttaccgg 4680
 30 atacctgtcc gcctttctcc cttcgggaag cgtggcgtt tctcatagct cacgctgtag 4740
 gtatctcagt tcggtgtagg tcgttcgctc caagctgggc tgtgtgcacg aacccccgt 4800
 tcagcccagc cgctgcgctt tatccggtaa ctatcgtctt ggtccaacc cggtaagaca 4860
 35 cgacttatcg cactggcag cagccactgg taacaggatt agcagagcga ggtatgtagg 4920
 cgggtctaca gagttcttga agtggtggcc taactacggc tacactagaa gaacagtatt 4980
 40 tggtatctgc gctctgctga agccagttac cttcggaaaa agagtggta gctcttgatc 5040
 cggcaaaaa accaccgctg gtacgggttt tttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag 5100
 45 aaaaaagga tctcaagaag atcctttgat cttttctacg gggctcgcg ctcagtggaa 5160
 cgaaaactca cgtaagggga ttttggctat gagattatca aaaaggatct tcacctagat 5220
 ctttttaaat taaaaatgaa gttttaaatc aatctaaagt atatatgagt aaacttggtc 5280
 50 tgacagttac caatgcttaa tcagtgaggg acctatctca gcgatctgct tatttcgctc 5340
 atccatagtt gcctgactcc ccgctgtgta gataactacg atacgggagg gcttaccatc 5400
 55 tggccccagt gctgcaatga taccgcgaga cccacgctca ccgctccag atttatcagc 5460
 aataaaccag ccagccggaa gggccgagcg cagaagtggc cctgcaactt tatccgcctc 5520
 catccagtct attaattggt gccgggaagc tagagtaagt agttcgccag ttaatagttt 5580
 60 gcgcaacggt gttgccattg ctacaggcat cgtggtgtca cgctcgtcgt ttggtatggc 5640
 ttcattcagc tccggttccc aacgatcaag gcgagttaca tgatcccca tgtgtgcaa 5700
 65 aaaagcgggt agtccttcg gtcctccgat cgttgcaga agtaagtgg ccgcagtgtt 5760
 atcactcatg gttatggcag cactgcataa ttctcttact gtcatgccat ccgtaagatg 5820

ES 2 378 767 T3

cttttctgtg actggtgagt actcaaccaa gtcattctga gaatagtgta tgcggcgacc 5880
 gagttgctct tgcccggcgt caatacggga taataccgcg ccacatagca gaactttaa 5940
 5 agtgetcatc attggaaaac gttcttcggg gcgaaaactc tcaaggatct taccgctggt 6000
 gagatccagt tcgatgtaac cactcgtgc acccaactga tcttcagcat cttttacttt 6060
 10 caccagcgtt tctgggtgag caaaaacagg aaggcaaat gccgcaaaa agggaataag 6120
 ggcgacacgg aatggtgaa tactcatact cttccttttt caatattatt gaagcattta 6180
 tcagggttat tgtctcatga gcggatacat atttgaatgt atttagaaaa ataaacaaat 6240
 15 aggggttccg cgcacatttc cccgaaaagt gccacctgac gtc 6283

<210> 40
 20 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25

<220>
 30 <223> Oligonucleótido 5k-I
 <400> 40
 acctgtctcg agttttccat ggctgacatc cagatgacc agtctccatc ctcc 54

35 <210> 41
 <211> 42
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Oligonucleótido sy3K-C

50 <400> 41
 gggaccaagg tggagatcaa acggaccgtg gccgccccca gc 42

55 <210> 42
 <211> 52
 <212> ADN

60 <213> Secuencia artificial

65 <220>
 <223> Oligonucleótido sy5L-A

ES 2 378 767 T3

<400> 42
acctgtctcg agttttccat ggcttcctcc gagctgacctc aggacctgc tg 52

5 <210> 43
<211> 44
<212> ADN
10 <213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Oligonucleótido 3L-B

<400> 43
20 ttttccttag cggccgcgac tcacctagga cggtcagctt ggtc 44

<210> 44
25 <211> 49
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
30

<220>
35 <223> Oligonucleótido 5H-Fshort

<400> 44
acctgtcttg aattctccat ggcccaggtg cagctgcagg agtccggcc 49

40 <210> 45
<211> 47
45 <212> ADN
<213> Secuencia artificial

50 <220>
<223> Oligonucleótido sy3H-A

<400> 45
55 gcccttgggtg cttagcgttg agacgggtcac cagggtgccc tggcccc 47

<210> 46
60 <211> 46
<212> ADN
65 <213> Secuencia artificial

ES 2 378 767 T3

<220>

5 <223> Oligonucleótido 5H-B

<400> 46
 acctgtcttg aattctccat ggccgaggtg cagctggtgg agtctg 46

10 <210> 47
 <211> 65

15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Oligonucleótido 5H-B**65

25 <400> 47
 acctgtcttg aattctccat ggccgaggtg cagctggtgg agtctggggg aggcttgga 60
 catcc 65

30 <210> 48
 <211> 47

35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>

<223> Oligonucleótido 5H-A

45 <400> 48
 acctgtcttg aattctccat ggcccaggtg cagctggtgc agtctgg 47

50 <210> 49
 <211> 68
 <212> ADN

55 <213> Secuencia artificial

60 <220>

<223> Oligonucleótido 115int68

<400> 49
 caccagggtg ccttgcccc agtagtcaaa gtaactcggc atctgcgacc ttgcacagta 60
 atacacgg 68

ES 2 378 767 T3

```

<210> 50

<211> 1341
5 <212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Cadena pesada de 02-113
15 <220>

<221> CDS
20 <222> (1)..(1341)
<223>

25 <400> 50
cag gtg cag ctg cag gag tcc ggc gca gga ctg ttg aag cct tcg gag 48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

30 acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tat ggt ggg tct ttc agt ggc tac 96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

35 tac tgg agc tgg atc cgg cag ccc cca ggg aag gga ctg gag tgg att 144
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

40 ggg tat atc tat tac agt ggg agc acc aac tac aac ccc tcc ctc aag 192
Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

45 agt cga gtc acc ata tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg 240
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

50 aag ctg agc tct gtg acc gct gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt gca 288
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

55 aag gcc cct tat atg atg tat ttt gac tcc tgg gcc cag gcc acc ctg 336
Lys Ala Pro Tyr Met Met Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

60 gtg acc gtc tcc agc gct agc acc aag ggc ccc agc gtg ttc ccc ctg 384
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

65 gcc ccc agc agc aag agc acc agc ggc ggc aca gcc gcc ctg gcc tgc 432
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

ctg gtg aag gac tac ttc ccc gag ccc gtg acc gtg agc tgg aac agc 480
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

ggc gcc ttg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccc gcc gtg ctg cag agc 528

```

ES 2 378 767 T3

	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	
					165					170					175		
5	agc	ggc	ctg	tac	agc	ctg	agc	agc	gtg	gtg	acc	gtg	ccc	agc	agc	agc	576
	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	
				180					185					190			
10	ctg	ggc	acc	cag	acc	tac	atc	tgc	aac	gtg	aac	cac	aag	ccc	agc	aac	624
	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	
			195					200					205				
15	acc	aag	gtg	gac	aaa	cgc	gtg	gag	ccc	aag	agc	tgc	gac	aag	acc	cac	672
	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	
		210					215					220					
20	acc	tgc	ccc	ccc	tgc	cct	gcc	ccc	gag	ctg	ctg	ggc	gga	ccc	tcc	gtg	720
	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	
						230					235					240	
25	ttc	ctg	ttc	ccc	ccc	aag	ccc	aag	gac	acc	ctc	atg	atc	agc	cgg	acc	768
	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	
					245					250					255		
30	ccc	gag	gtg	acc	tgc	gtg	gtg	gtg	gac	gtg	agc	cac	gag	gac	ccc	gag	816
	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	
				260					265					270			
35	gtg	aag	ttc	aac	tgg	tac	gtg	gac	ggc	gtg	gag	gtg	cac	aac	gcc	aag	864
	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	
			275					280					285				
40	acc	aag	ccc	cgg	gag	gag	cag	tac	aac	agc	acc	tac	cgg	gtg	gtg	agc	912
	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	
		290					295					300					
45	gtg	ctc	acc	gtg	ctg	cac	cag	gac	tgg	ctg	aac	ggc	aag	gag	tac	aag	960
	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	
						310					315					320	
50	tgc	aag	gtg	agc	aac	aag	gcc	ctg	cct	gcc	ccc	atc	gag	aag	acc	atc	1008
	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	
					325					330					335		
55	agc	aag	gcc	aag	ggc	cag	ccc	cgg	gag	ccc	cag	gtg	tac	acc	ctg	ccc	1056
	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	
				340					345					350			
60	ccc	agc	cgg	gag	gag	atg	acc	aag	aac	cag	gtg	tcc	ctc	acc	tgt	ctg	1104
	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	
				355				360					365				
65	gtg	aag	ggc	ttc	tac	ccc	agc	gac	atc	gcc	gtg	gag	tgg	gag	agc	aac	1152
	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	
		370					375					380					
70	ggc	cag	ccc	gag	aac	aac	tac	aag	acc	acc	ccc	cct	gtg	ctg	gac	agc	1200
	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	
						390					395					400	
75	gac	ggc	agc	ttc	ttc	ctg	tac	agc	aag	ctc	acc	gtg	gac	aag	agc	cgg	1248
	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	
					405					410					415		
80	tgg	cag	cag	ggc	aac	gtg	ttc	agc	tgc	agc	gtg	atg	cac	gag	gcc	ctg	1296
	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	
				420					425					430			

ES 2 378 767 T3

cac aac cac tac acc cag aag agc ctg agc ctg agc ccc ggc aag 1341
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

5

<210> 51

<211> 447

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Cadena pesada de 02-113

20

<400> 51

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

25

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

30

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

35

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

40

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

45

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

50

Lys Ala Pro Tyr Met Met Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

55

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

60

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

65

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

70

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

75

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

ES 2 378 767 T3

5 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220
 10 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 15 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 20 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 25 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 30 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 35 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 40 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 45 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 50 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 55 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 60 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 65 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

ES 2 378 767 T3

<210> 52

<211> 1344

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Cadena pesada de 02-114

15 <220>

<221> CDS

<222> (1)..(1344)

20 <223>

25 <400> 52

48	gag	gtg	cag	ctg	gtg	gag	tct	ggg	gga	ggc	ttg	gta	cag	cct	ggg	ggg	
	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
	1				5					10					15		

30

96	tcc	ctg	aga	ctc	tcc	tgt	gca	gcc	tct	gga	ttc	acc	ttc	agt	agc	tat	
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	
				20					25					30			

35

144	agc	atg	aac	tgg	gtc	cgc	cag	gct	cca	ggg	aag	ggg	ctg	gag	tgg	gtt	
	Ser	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
			35					40					45				

40

192	tca	tac	att	agt	agt	agt	agt	agt	acc	ata	tac	tac	gca	gac	tct	gtg	
	Ser	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Thr	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	
		50					55					60					

45

240	aag	ggc	cga	ttc	acc	atc	tcc	aga	gac	aat	gcc	aag	aac	tca	ctg	tat	
	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr	
	65					70				75					80		

50

288	ctg	caa	atg	aac	agc	ctg	aga	gac	gag	gac	acg	gcc	gtg	tat	tac	tgt	
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Asp	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85						90					95		

55

336	gca	aag	gag	act	tgg	tgg	cag	tcc	ttt	gac	tac	tgg	ggc	cag	ggc	acc	
	Ala	Lys	Glu	Thr	Trp	Trp	Gln	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	
				100					105					110			

60

384	ctg	gtg	acc	gtc	tcc	agc	gct	agc	acc	aag	ggc	ccc	agc	gtg	ttc	ccc	
	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	
			115				120					125					

65

432	ctg	gcc	ccc	agc	agc	aag	agc	acc	agc	ggc	ggc	aca	gcc	gcc	ctg	ggc	
	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	
		130				135						140					

70

480	tgc	ctg	gtg	aag	gac	tac	ttc	ccc	gag	ccc	gtg	acc	gtg	agc	tgg	aac	
	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	
	145					150					155				160		

75

528	agc	ggc	gcc	ttg	acc	agc	ggc	gtg	cac	acc	ttc	ccc	gcc	gtg	ctg	cag	
	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	

ES 2 378 767 T3

				165					170					175				
	5	agc	agc	ggc	ctg	tac	agc	ctg	agc	agc	gtg	gtg	acc	gtg	ccc	agc	agc	576
		Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	
					180					185				190				
	10	agc	ctg	ggc	acc	cag	acc	tac	atc	tgc	aac	gtg	aac	cac	aag	ccc	agc	624
		Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	
				195					200					205				
	15	aac	acc	aag	gtg	gac	aaa	cgc	gtg	gag	ccc	aag	agc	tgc	gac	aag	acc	672
		Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	
				210				215					220					
	20	cac	acc	tgc	ccc	ccc	tgc	cct	gcc	ccc	gag	ctg	ctg	ggc	gga	ccc	tcc	720
		His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	
							230					235					240	
	25	gtg	ttc	ctg	ttc	ccc	ccc	aag	ccc	aag	gac	acc	ctc	atg	atc	agc	cgg	768
		Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	
						245					250					255		
	30	acc	ccc	gag	gtg	acc	tgc	gtg	gtg	gtg	gac	gtg	agc	cac	gag	gac	ccc	816
		Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	
					260					265					270			
	35	gag	gtg	aag	ttc	aac	tgg	tac	gtg	gac	ggc	gtg	gag	gtg	cac	aac	gcc	864
		Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	
				275					280					285				
	40	aag	acc	aag	ccc	cgg	gag	gag	cag	tac	aac	agc	acc	tac	cgg	gtg	gtg	912
		Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val		
				290				295					300					
	45	agc	gtg	ctc	acc	gtg	ctg	cac	cag	gac	tgg	ctg	aac	ggc	aag	gag	tac	960
		Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	
							310					315					320	
	50	aag	tgc	aag	gtg	agc	aac	aag	gcc	ctg	cct	gcc	ccc	atc	gag	aag	acc	1008
		Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	
						325					330					335		
	55	atc	agc	aag	gcc	aag	ggc	cag	ccc	cgg	gag	ccc	cag	gtg	tac	acc	ctg	1056
		Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	
					340					345					350			
	60	ccc	ccc	agc	cgg	gag	gag	atg	acc	aag	aac	cag	gtg	tcc	ctc	acc	tgt	1104
		Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	
				355					360					365				
	65	ctg	gtg	aag	ggc	ttc	tac	ccc	agc	gac	atc	gcc	gtg	gag	tgg	gag	agc	1152
		Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	
				370				375					380					
	70	aac	ggc	cag	ccc	gag	aac	aac	tac	aag	acc	acc	ccc	cct	gtg	ctg	gac	1200
		Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	
							390					395					400	
	75	agc	gac	ggc	agc	ttc	ttc	ctg	tac	agc	aag	ctc	acc	gtg	gac	aag	agc	1248
		Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	
						405					410				415			
	80	cgg	tgg	cag	cag	ggc	aac	gtg	ttc	agc	tgc	agc	gtg	atg	cac	gag	gcc	1296
		Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	
					420					425				430				
	85	ctg	cac	aac	cac	tac	acc	cag	aag	agc	ctg	agc	ctg	agc	ccc	ggc	aag	1344

ES 2 378 767 T3

	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys
			435					440					445			
5	<210>	53														
	<211>	448														
	<212>	PRT														
10	<213>	Secuencia artificial														
15	<220>															
	<223>	Cadena pesada de 02-114														
	<400>	53														
20	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
	1				5					10					15	
25	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
				20					25					30		
30	Ser	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
			35				40						45			
35	Ser	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Thr	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50						55					60				
40	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr
	65					70					75					80
45	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Asp	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90						95	
50	Ala	Lys	Glu	Thr	Trp	Trp	Gln	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
				100					105					110		
55	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro
			115				120						125			
60	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly
	130					135						140				
65	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
	145					150					155					160
70	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
				165						170					175	
75	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
			180						185						190	

ES 2 378 767 T3

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 5
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 10
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235
 15
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 20
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 25
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 30
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 35
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 40
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 45
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 50
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 55
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 60
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 65
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 54

ES 2 378 767 T3

```

<211> 1344
<212> ADN
5 <213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Cadena pesada de 02-115
<220>
15 <221> CDS
<222> (1)..(1344)
<223>
20

<400> 54
25 cag gtg cag ctg gtg cag tct ggg gct gag gcg aag aag cct ggg gcc 48
   Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Ala Lys Lys Pro Gly Ala
   1 5 10 15

   tca gtg aag gtc tcc tgc aag gct tct gga tac acc ttc acc ggc tac 96
   Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
   20 25 30

   tat atg cac tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggg ctt gag tgg atg 144
   Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
   35 40 45

   gga tgg atc agc gct tac aat ggt aac aca aac tat gca cag aag ctc 192
   Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
   50 55 60

   cag ggc aga gtc acc atg acc aca gac aca tcc acg agc aca gcc tac 240
   Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
   65 70 75 80

   atg gag ctg agg agc ctg aga tct gac gac acg gcc gtg tat tac tgt 288
   Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
   85 90 95

   gca agg tcg cag atg ccg agt tac ttt gac tac tgg ggc cag ggc acc 336
   Ala Arg Ser Gln Met Pro Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
   100 105 110

   ctg gtg acc gtc tcc agc gct agc acc aag ggc ccc agc gtg ttc ccc 384
   Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
   115 120 125

   ctg gcc ccc agc agc aag agc acc agc ggc ggc aca gcc gcc ctg ggc 432
   Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
   130 135 140

   tgc ctg gtg aag gac tac ttc ccc gag ccc gtg acc gtg agc tgg aac 480
   Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
   145 150 155 160

   agc ggc gcc ttg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccc gcc gtg ctg cag 528
   Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
   165 170 175

```

ES 2 378 767 T3

	agc agc ggc ctg tac agc ctg agc agc gtg gtg acc gtg ccc agc agc	576
	Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser	
	180 185 190	
5	agc ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aac cac aag ccc agc	624
	Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser	
	195 200 205	
10	aac acc aag gtg gac aaa cgc gtg gag ccc aag agc tgc gac aag acc	672
	Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr	
	210 215 220	
15	cac acc tgc ccc ccc tgc cct gcc ccc gag ctg ctg ggc gga ccc tcc	720
	His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser	
	225 230 235 240	
20	gtg ttc ctg ttc ccc ccc aag ccc aag gac acc ctc atg atc agc cgg	768
	Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg	
	245 250 255	
25	acc ccc gag gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac gag gac ccc	816
	Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro	
	260 265 270	
30	gag gtg aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cac aac gcc	864
	Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala	
	275 280 285	
35	aag acc aag ccc cgg gag gag cag tac aac agc acc tac cgg gtg gtg	912
	Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val	
	290 295 300	
40	agc gtg ctc acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg aac ggc aag gag tac	960
	Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr	
	305 310 315 320	
45	aag tgc aag gtg agc aac aag gcc ctg cct gcc ccc atc gag aag acc	1008
	Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr	
	325 330 335	
50	atc agc aag gcc aag ggc cag ccc cgg gag ccc cag gtg tac acc ctg	1056
	Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu	
	340 345 350	
55	ccc ccc agc cgg gag gag atg acc aag aac cag gtg tcc ctc acc tgt	1104
	Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys	
	355 360 365	
60	ctg gtg aag ggc ttc tac ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc	1152
	Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser	
	370 375 380	
65	aac ggc cag ccc gag aac aac tac aag acc acc ccc cct gtg ctg gac	1200
	Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp	
	385 390 395 400	
70	agc gac ggc agc ttc ttc ctg tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc	1248
	Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser	
	405 410 415	
75	cgg tgg cag cag ggc aac gtg ttc agc tgc agc gtg atg cac gag gcc	1296
	Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala	
	420 425 430	
80	ctg cac aac cac tac acc cag aag agc ctg agc ctg agc ccc ggc aag	1344
	Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys	
	435 440 445	

ES 2 378 767 T3

<210> 55

5 <211> 448

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Cadena pesada de 02-115

<400> 55

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

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

30 Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gln Met Pro Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

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

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

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

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

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

65 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

ES 2 378 767 T3

	195		200		205														
5	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr			
	210						215					220							
10	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser			
	225					230					235					240			
15	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg			
					245					250					255				
20	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro			
				260					265					270					
25	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala			
			275					280					285						
30	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val			
	290						295					300							
35	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr			
	305					310					315					320			
40	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr			
					325					330					335				
45	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu			
				340					345					350					
50	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys			
			355					360					365						
55	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser			
	370						375					380							
60	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp			
	385					390					395					400			
65	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser			
					405					410					415				
70	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala			
				420					425					430					
75	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
			435					440					445						
80	<210>	56																	
85	<211>	1344																	

ES 2 378 767 T3

```

<212>  ADN
<213>  Secuencia artificial

5
<220>
<223>  Cadena pesada de 02-116

10
<220>
<221>  CDS

15
<222>  (1)..(1344)
<223>

20
<400>  56
gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg      48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1          5          10
25
tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttt agc agc tat      96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
          20          25          30
30
gcc atg agc tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggg ctg gag tgg gtc      144
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
          35          40          45
35
tca gct att agt ggt agt ggt ggt agc aca tac tac gca gac tcc gtg      192
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
          50          55          60
40
aag ggc cgg ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat      240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65          70          75          80
45
ctg caa atg aac agc cta aga gcc gag gac acg gcc gtg tat tac tgt      288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
          85          90          95
50
gca aag gac gct ctt tgg ctg gct ttt gac tac tgg ggc cag ggc acc      336
Ala Lys Asp Ala Leu Trp Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
          100          105          110
55
ctg gtg acc gtc tcc agc gct agc acc aag ggc ccc agc gtg ttc ccc      384
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
          115          120          125
60
ctg gcc ccc agc agc aag agc acc agc ggc ggc aca gcc gcc ctg ggc      432
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
          130          135          140
65
tgc ctg gtg aag gac tac ttc ccc gag ccc gtg acc gtg agc tgg aac      480
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Thr Val Ser Trp Asn
145          150          155          160
70
agc ggc gcc ttg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccc gcc gtg ctg cag      528
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
          165          170          175
80
agc agc ggc ctg tac agc ctg agc agc gtg gtg acc gtg ccc agc agc      576
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

```

ES 2 378 767 T3

	180	185	190	
5	agc ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aac cac aag ccc agc Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser 195 200 205			624
10	aac acc aag gtg gac aaa cgc gtg gag ccc aag agc tgc gac aag acc Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr 210 215 220			672
15	cac acc tgc ccc ccc tgc cct gcc ccc gag ctg ctg ggc gga ccc tcc His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser 225 230 235 240			720
20	gtg ttc ctg ttc ccc ccc aag ccc aag gac acc ctc atg atc agc cgg Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg 245 250 255			768
25	acc ccc gag gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac gag gac ccc Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro 260 265 270			816
30	gag gtg aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cac aac gcc Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala 275 280 285			864
35	aag acc aag ccc cgg gag gag cag tac aac agc acc tac cgg gtg gtg Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val 290 295 300			912
40	agc gtg ctc acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg aac ggc aag gag tac Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr 305 310 315 320			960
45	aag tgc aag gtg agc aac aag gcc ctg cct gcc ccc atc gag aag acc Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr 325 330 335			1008
50	atc agc aag gcc aag ggc cag ccc cgg gag ccc cag gtg tac acc ctg Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu 340 345 350			1056
55	ccc ccc agc cgg gag gag atg acc aag aac cag gtg tcc ctc acc tgt Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys 355 360 365			1104
60	ctg gtg aag ggc ttc tac ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser 370 375 380			1152
65	aac ggc cag ccc gag aac aac tac aag acc acc ccc cct gtg ctg gac Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp 385 390 395 400			1200
70	agc gac ggc agc ttc ttc ctg tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser 405 410 415			1248
75	cgg tgg cag cag ggc aac gtg ttc agc tgc agc gtg atg cac gag gcc Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala 420 425 430			1296
80	ctg cac aac cac tac acc cag aag agc ctg agc ctg agc ccc ggc aag Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys 435 440 445			1344

ES 2 378 767 T3

<210> 57
 <211> 448
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10
 <220>
 <223> Cadena pesada de 02-116

15 <400> 57

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

20 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

30 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

40 Ala Lys Asp Ala Leu Trp Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

ES 2 378 767 T3

	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr
	210						215					220				
5	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser
	225					230					235					240
10	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
					245					250					255	
15	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
				260					265					270		
20	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
			275					280					285			
25	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val
	290						295					300				
30	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr
	305					310					315					320
35	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr
					325					330					335	
40	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu
			340						345					350		
45	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys
			355					360					365			
50	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser
	370						375					380				
55	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp
	385					390					395					400
60	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser
					405					410					415	
65	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala
			420						425					430		
70	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys
			435					440					445			
75	<210>		58													
80	<211>		1341													
85	<212>		ADN													

ES 2 378 767 T3

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Cadena pesada de 02-117

<220>

10

<221> CDS

<222> (1)..(1341)

15 <223>

<400> 58

20	gag	gtg	cag	ctg	gtg	gag	tct	ggg	gga	ggc	ttg	gta	cat	cct	ggg	ggg	48
	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	His	Pro	Gly	Gly	
	1			5					10					15			
25	tcc	ctg	aga	ctc	tcc	tgt	gca	ggc	tct	gga	ttc	acc	ttc	agt	agc	tat	96
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Gly	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	
			20					25						30			
30	gct	atg	cac	tgg	gtt	cgc	cag	gct	cca	gga	aaa	ggt	ctg	gag	tgg	gta	144
	Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
			35				40						45				
35	tca	gct	att	ggt	act	ggt	ggt	ggc	aca	tac	tat	gca	gac	tcc	gtg	aag	192
	Ser	Ala	Ile	Gly	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	
	50			55				60									
35	ggc	cga	ttc	acc	atc	tcc	aga	gac	aat	gcc	aag	aac	tcc	ttg	tat	ctt	240
	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr	Leu	
	65			70				75						80			
40	caa	atg	aac	agc	ctg	aga	gcc	gag	gac	acg	gcc	gtg	tat	tac	tgt	gca	288
	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	
				85				90							95		
45	agg	tct	acg	cct	tgg	ttt	tcc	ttt	gac	tac	tgg	ggc	cag	ggc	acc	ctg	336
	Arg	Ser	Thr	Pro	Trp	Phe	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	
			100					105					110				
50	gtg	acc	gtc	tcc	agc	gct	agc	acc	aag	ggc	ccc	agc	gtg	ttc	ccc	ctg	384
	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	
			115					120					125				
55	gcc	ccc	agc	agc	aag	agc	acc	agc	ggc	ggc	aca	gcc	gcc	ctg	ggc	tgc	432
	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	
	130						135					140					
55	ctg	gtg	aag	gac	tac	ttc	ccc	gag	ccc	gtg	acc	gtg	agc	tgg	aac	agc	480
	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	
	145				150					155					160		
60	ggc	gcc	ttg	acc	agc	ggc	gtg	cac	acc	ttc	ccc	gcc	gtg	ctg	cag	agc	528
	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	
				165					170					175			
65	agc	ggc	ctg	tac	agc	ctg	agc	agc	gtg	gtg	acc	gtg	ccc	agc	agc	agc	576
	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	
			180					185					190				

ES 2 378 767 T3

ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aac cac aag ccc agc aac 624
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205

5 acc aag gtg gac aaa cgc gtg gag ccc aag agc tgc gac aag acc cac 672
 Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220

10 acc tgc ccc ccc tgc cct gcc ccc gag ctg ctg ggc gga ccc tcc gtg 720
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

15 ttc ctg ttc ccc ccc aag ccc aag gac acc ctc atg atc agc cgg acc 768
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

20 ccc gag gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac gag gac ccc gag 816
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

25 gtg aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cac aac gcc aag 864
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

30 acc aag ccc cgg gag gag cag tac aac agc acc tac cgg gtg gtg agc 912
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300

35 gtg ctc acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg aac ggc aag gag tac aag 960
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

40 tgc aag gtg agc aac aag gcc ctg cct gcc ccc atc gag aag acc atc 1008
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

45 agc aag gcc aag ggc cag ccc cgg gag ccc cag gtg tac acc ctg ccc 1056
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

50 ccc agc cgg gag gag atg acc aag aac cag gtg tcc ctc acc tgt ctg 1104
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

55 gtg aag ggc ttc tac ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aac 1152
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

60 ggc cag ccc gag aac aac tac aag acc acc ccc cct gtg ctg gac agc 1200
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400

65 gac ggc agc ttc ttc ctg tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc cgg 1248
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415

70 tgg cag cag ggc aac gtg ttc agc tgc agc gtg atg cac gag gcc ctg 1296
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

75 cac aac cac tac acc cag aag agc ctg agc ctg agc ccc ggc aag 1341
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

80 <210> 59

ES 2 378 767 T3

<211> 447
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

<220>
 10 <223> Cadena pesada de 02-117
 <400> 59

15 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 1 5 10 15

20 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

30 Ser Ala Ile Gly Thr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

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

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

45 Arg Ser Thr Pro Trp Phe Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

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

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

60 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160

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

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

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

80 Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His

ES 2 378 767 T3

	210		215		220														
5	Thr 225	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val			
						230					235					240			
10	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr			
					245					250					255				
15	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu			
				260					265					270					
20	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys			
			275					280					285						
25	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser			
		290					295					300							
30	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys			
	305					310					315					320			
35	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile			
					325					330					335				
40	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro			
				340					345					350					
45	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu			
			355					360					365						
50	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn			
		370					375					380							
55	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser			
	385					390					395					400			
60	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg			
				405						410					415				
65	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu			
				420					425					430					
70	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys				
			435					440					445						
75	<210>	60																	
80	<211>	1341																	
85	<212>	ADN																	
90	<213>	Secuencia artificial																	

ES 2 378 767 T3

<220>

5 <223> Cadena pesada de 02-118

<220>

10 <221> CDS

<222> (1)..(1341)

<223>

15

<400> 60

gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cat cct ggg ggg 48
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 1 5 10 15

20 tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggc tct gga ttc acc ttc agt agc tat 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

25 gct atg cac tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

30 tca gct att agt act ggt ggt ggc aca tac tat gca gac tcc gtg aag 192
 Ser Ala Ile Ser Thr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

35 ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

40 caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gcc gtg tat tac tgt gca 288
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

45 agg agt gct tgg tgg ctg tcc ttt gac tcc tgg ggc cag ggc acc ctg 336
 Arg Ser Ala Trp Trp Leu Ser Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

50 gtg acc gtc tcc agc gct agc acc aag ggc ccc agc gtg ttc ccc ctg 384
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125

55 gcc ccc agc agc aag agc acc agc ggc ggc aca gcc gcc ctg ggc tgc 432
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140

60 ctg gtg aag gac tac ttc ccc gag ccc gtg acc gtg agc tgg aac agc 480
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160

ggc gcc ttg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccc gcc gtg ctg cag agc 528
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175

65 agc ggc ctg tac agc ctg agc agc gtg gtg acc gtg ccc agc agc agc 576
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190

ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aac cac aag ccc agc aac 624
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

ES 2 378 767 T3

	195	200	205	
5	acc aag gtg gac aaa cgc gtg gag ccc aag agc tgc gac aag acc cac Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His 210 215 220			672
10	acc tgc ccc ccc tgc cct gcc ccc gag ctg ctg ggc gga ccc tcc gtg Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val 225 230 235 240			720
15	ttc ctg ttc ccc ccc aag ccc aag gac acc ctc atg atc agc cgg acc Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr 245 250 255			768
20	ccc gag gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac gag gac ccc gag Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu 260 265 270			816
25	gtg aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cac aac gcc aag Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys 275 280 285			864
30	acc aag ccc cgg gag gag cag tac aac agc acc tac cgg gtg gtg agc Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser 290 295 300			912
35	gtg ctc acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg aac ggc aag gag tac aag Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys 305 310 315 320			960
40	tgc aag gtg agc aac aag gcc ctg cct gcc ccc atc gag aag acc atc Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile 325 330 335			1008
45	agc aag gcc aag ggc cag ccc cgg gag ccc cag gtg tac acc ctg ccc Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro 340 345 350			1056
50	ccc agc cgg gag gag atg acc aag aac cag gtg tcc ctc acc tgt ctg Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu 355 360 365			1104
55	gtg aag ggc ttc tac ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aac Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn 370 375 380			1152
60	ggc cag ccc gag aac aac tac aag acc acc ccc cct gtg ctg gac agc Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser 385 390 395 400			1200
65	gac ggc agc ttc ttc ctg tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc cgg Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg 405 410 415			1248
70	tgg cag cag ggc aac gtg ttc agc tgc agc gtg atg cac gag gcc ctg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu 420 425 430			1296
75	cac aac cac tac acc cag aag agc ctg agc ctg agc ccc ggc aag His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys 435 440 445			1341
80	<210> 61			
85	<211> 447			

ES 2 378 767 T3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5

<220>

<223> Cadena pesada de 02-118

10

<400> 61

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
1 5 10 15

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

20

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

25

Ser Ala Ile Ser Thr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

30

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

35

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

40

Arg Ser Ala Trp Trp Leu Ser Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

45

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

50

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

55

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

60

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

65

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

70

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

75

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

ES 2 378 767 T3

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
5
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
10
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
15
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
20
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
25
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
30
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
35
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
40
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
45
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
50
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
55
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 62
60 <211> 642
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
65

ES 2 378 767 T3

```

<220>
<223> Cadena ligera de 02-113, 02-114, 02-116, 02-117 y 02-118
5 <220>
<221> CDS
10 <222> (1)..(642)
<223>

15 <400> 62
gac att cag atg acc cag tct cca tcc tcc ctg tct gca tct gta gga 48
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

20 gac aga gtc acc atc act tgc cgg gca agt cag agc att agc agc tac 96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

25 tta aat tgg tat cag cag aaa cca ggg aaa gcc cct aag ctc ctg atc 144
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

30 tat gct gca tcc agt ttg caa agt ggg gtc cca tca agg ttc agt ggc 192
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

35 agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc atc agc agt ctg caa cct 240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

40 gaa gat ttt gca act tac tac tgt caa cag agt tac agt acc cct cca 288
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95

45 acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gag atc aaa cgg acc gtg gcc gct 336
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

50 ccc agc gtg ttc atc ttc ccc ccc tcc gac gag cag ctg aag agc ggc 384
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

55 acc gcc agc gtg gtg tgc ctg ctg aac aac ttc tac ccc cgg gag gcc 432
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

60 aag gtg cag tgg aag gtg gac aac gcc ctg cag agc ggc aac agc cag 480
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

65 gag agc gtg acc gag cag gac agc aag gac tcc acc tac agc ctg agc 528
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

70 agc acc ctc acc ctg agc aag gcc gac tac gag aag cac aag gtg tac 576
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

75 gcc tgc gag gtg acc cac cag ggc ctg agc agc ccc gtg acc aag agc 624
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

```

ES 2 378 767 T3

642

ttc aac cgg ggc gag tgt
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

5

<210> 63

<211> 214

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Cadena ligera de 02-113, 02-114, 02-116, 02-117 y 02-118

20

<400> 63

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

25

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

30

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

35

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

40

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

45

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

50

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

55

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

60

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

65

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

ES 2 378 767 T3

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

5

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

10

<210> 64
 <211> 696

15

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223> Cadena ligera de 02-115

25

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(696)

30

<223>

35

<400> 64
 tcc tcc gag ctg acc cag gac cct gct gtg tct gtg gcc ttg gga cag 48
 Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15

40

aca gtc agg atc aca tgc caa gga gac agc ctc aga agc tat tat gca 96
 Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala
 20 25 30

45

agc tgg tac cag cag aag cca gga cag gcc cct gta ctt gtc atc tat 144
 Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45

50

ggt aaa aac aac cgg ccc tca ggg atc cca gac cga ttc tct ggc tcc 192
 Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

55

agc tca gga aac aca gct tcc ttg acc atc act ggg gct cag gcg gaa 240
 Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
 65 70 75 80

60

gat gag gct gac tat tac tgt aac tcc cgg gac agc agt ggt aac cat 288
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His
 85 90 95

65

gtg gta ttc ggc gga ggg acc aag ctg acc gtc cta ggt gag tcg cgg 336
 Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Glu Ser Arg
 100 105 110

65

cgg caa gct tac cgt gct ggg cca gcc caa ggc cgc tcc cag cgt gac 384
 Pro Gln Ala Tyr Arg Ala Gly Pro Ala Gln Gly Arg Ser Gln Arg Asp
 115 120 125

ES 2 378 767 T3

cct gtt ccc ccc ctc ctc cga gga gct gca ggc caa caa ggc cac cct 432
 Pro Val Pro Pro Leu Leu Arg Gly Ala Ala Gly Gln Gln Gly His Pro
 130 135 140

5 ggt gtg cct cat cag cga ctt cta ccc tgg cgc cgt gac cgt ggc ctg 480
 Gly Val Pro His Gln Arg Leu Leu Pro Trp Arg Arg Asp Arg Gly Leu
 145 150 155 160

10 gaa ggc cga cag cag ccc cgt gaa ggc cgg cgt gga gac cac cac ccc 528
 Glu Gly Arg Gln Gln Pro Arg Glu Gly Arg Arg Gly Asp His His Pro
 165 170 175

15 cag caa gca gag caa caa caa gta cgc cgc cag cag cta cct gag cct 576
 Gln Gln Ala Glu Gln Gln Gln Val Arg Arg Gln Gln Leu Pro Glu Pro
 180 185 190

20 cac ccc cga gca gtg gaa gag cca ccg gag cta cag ctg cca ggt gac 624
 His Pro Arg Ala Val Glu Glu Pro Pro Glu Leu Gln Leu Pro Gly Asp
 195 200 205

cca cga ggg cag cac cgt gga gaa gac cgt ggc ccc cac cga gtg cag 672
 Pro Arg Gly Gln His Arg Gly Glu Asp Arg Gly Pro His Arg Val Gln
 210 215 220

25 cta ata gac tta agt tta aac cgc 696
 Leu Ile Asp Leu Ser Leu Asn Arg
 225 230

30 <210> 65
 <211> 232
 <212> PRT

35 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Cadena ligera de 02-115
 <400> 65

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

50 Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala
 20 25 30

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

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

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
 65 70 75 80

65 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His
 85 90 95

ES 2 378 767 T3

5	Val	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Glu	Ser	Arg
			100						105					110		
10	Pro	Gln	Ala	Tyr	Arg	Ala	Gly	Pro	Ala	Gln	Gly	Arg	Ser	Gln	Arg	Asp
			115					120					125			
15	Gly	Val	Pro	His	Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Trp	Arg	Arg	Asp	Arg	Gly	Leu
	145					150					155					160
20	Glu	Gly	Arg	Gln	Gln	Pro	Arg	Glu	Gly	Arg	Arg	Gly	Asp	His	His	Pro
				165						170					175	
25	Gln	Gln	Ala	Glu	Gln	Gln	Gln	Val	Arg	Arg	Gln	Gln	Leu	Pro	Glu	Pro
			180						185					190		
30	His	Pro	Arg	Ala	Val	Glu	Glu	Pro	Pro	Glu	Leu	Gln	Leu	Pro	Gly	Asp
			195					200						205		
35	Pro	Arg	Gly	Gln	His	Arg	Gly	Glu	Asp	Arg	Gly	Pro	His	Arg	Val	Gln
	210						215					220				
35	Leu	Ile	Asp	Leu	Ser	Leu	Asn	Arg								
	225					230										

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo monoclonal humano capaz de unirse específicamente a CD1a humano, caracterizado por que el anticuerpo monoclonal humano comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N.º: 8 y una región variable de cadena ligera que comprende la SEC ID N.º: 20.
- 5 2. Un anticuerpo monoclonal humano de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que el anticuerpo es una IgG1.
3. Un anticuerpo monoclonal humano de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 - 2, caracterizado por que el anticuerpo tiene al menos una actividad seleccionada del grupo que consiste en citotoxicidad celular mediada por anticuerpos, citotoxicidad dependiente del complemento e internalización.
- 10 4. Un inmunoconjugado que comprenden un anticuerpo monoclonal humano de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3, comprendiendo además el inmunoconjugado al menos un marcador.
5. Un inmunoconjugado de acuerdo con la reivindicación 4, caracterizado por que el marcador se selecciona del grupo que consisten en una sustancia tóxica, una sustancia radioactiva, un liposoma, una enzima y sus combinaciones.
- 15 6. Una molécula de ácido nucleico que codifica un anticuerpo monoclonal humano de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3.
7. Un vector que comprende al menos una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 6.
8. Una célula huésped que comprende al menos un vector de acuerdo con la reivindicación 7.
- 20 9. Una célula huésped de acuerdo con la reivindicación 8, caracterizada por que la célula huésped es una célula humana.
10. Un procedimiento para producir un anticuerpo monoclonal humano de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3, en el que el procedimiento comprende las etapas de:
 - a) cultivar una célula huésped de acuerdo con la reivindicación 8 ó 9 bajo condiciones que conducen a la expresión del anticuerpo monoclonal y, opcionalmente,
 - 25 b) recuperar el anticuerpo monoclonal humano expresado.
11. Una composición que comprende un anticuerpo monoclonal humano de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3 o un inmunoconjugado de acuerdo con la reivindicación 4 ó 5.
12. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo monoclonal humano de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3, un inmunoconjugado de acuerdo con la reivindicación 4 ó 5 o una
 - 30 composición de acuerdo con la reivindicación 11, comprendiendo además la composición farmacéutica al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 13. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 12, que comprende además al menos otro agente terapéutico.
- 14. Un anticuerpo monoclonal humano de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3, un
 - 35 inmunoconjugado de acuerdo con la reivindicación 4 ó 5, una composición de acuerdo con la reivindicación 11 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 12 ó 13 para su uso como un medicamento.
- 15. Un procedimiento para detectar CD1a humanas, en el que el procedimiento comprende las etapas de:
 - a. poner en contacto una muestra con una cantidad diagnósticamente eficaz de un anticuerpo monoclonal humano de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3 o un inmunoconjugado de acuerdo con la
 - 40 reivindicación 4 o 5 y
 - b. determinar si el anticuerpo monoclonal humano o el inmunoconjugado se unen específicamente a un compuesto de la muestra.

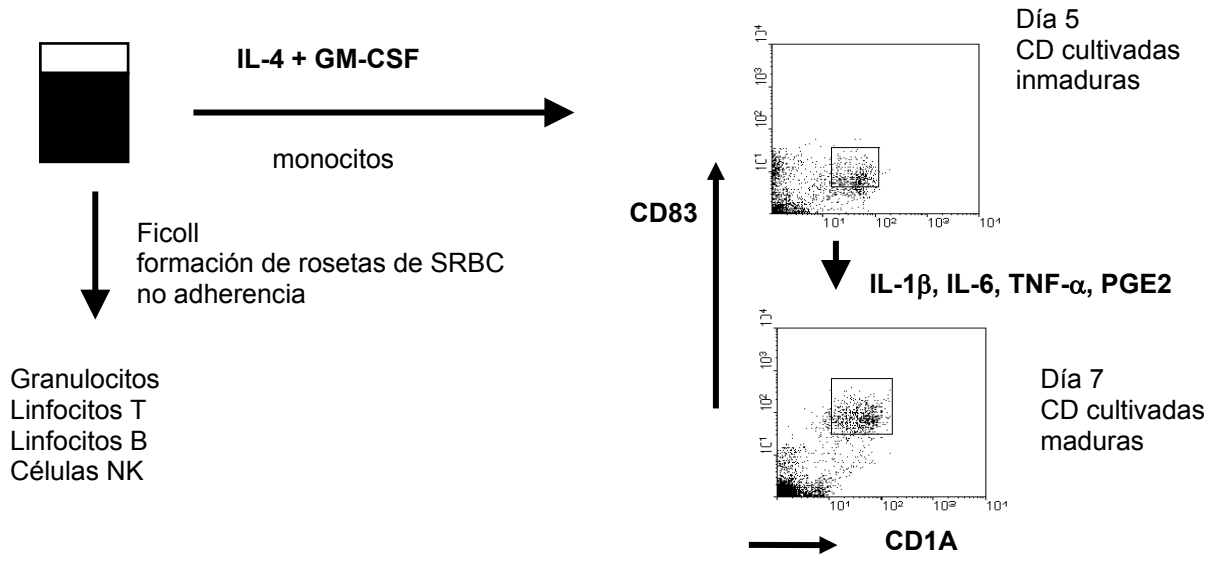
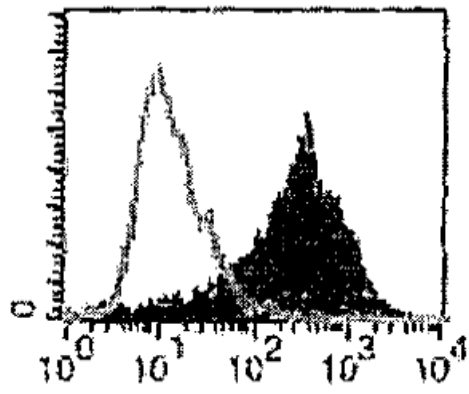
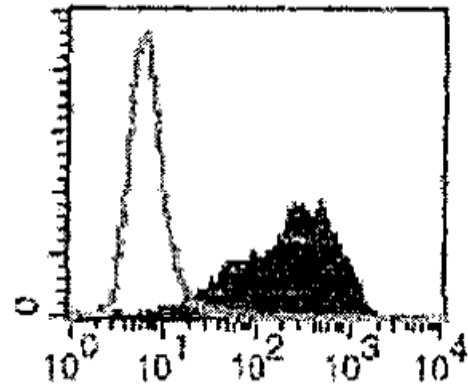


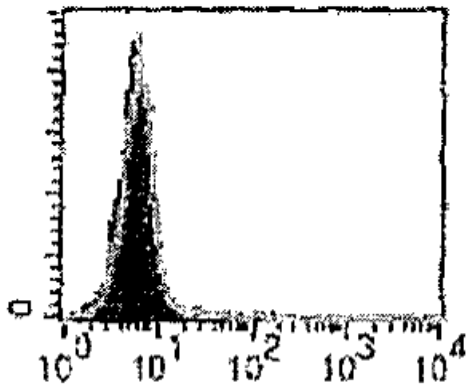
FIGURA 1



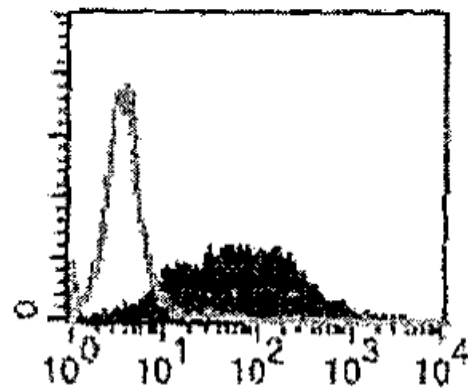
CD inmaduras



CD maduras



C1R-simulado



C1R-CD1a

5

FIGURA 2

10

15

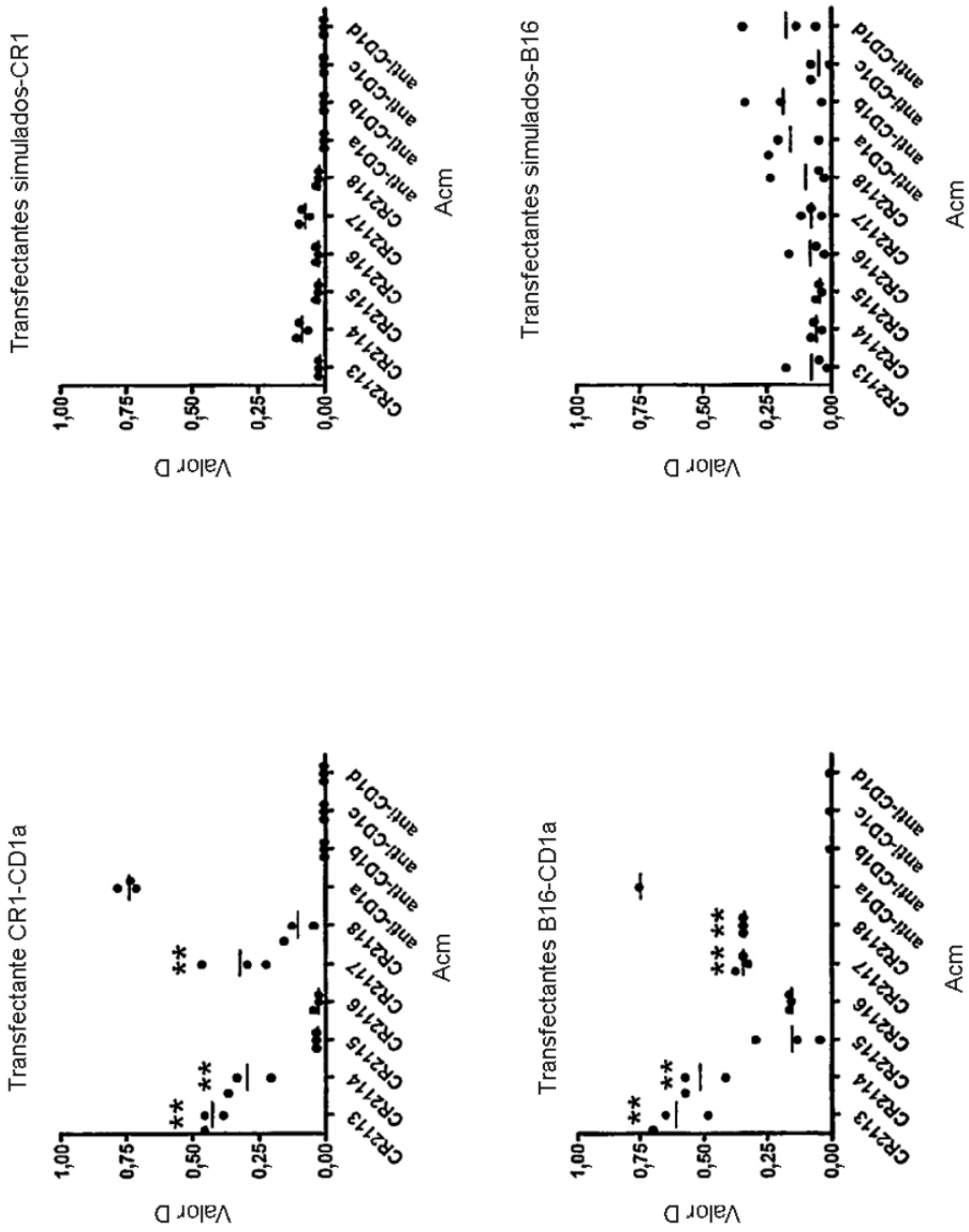


Figura 3

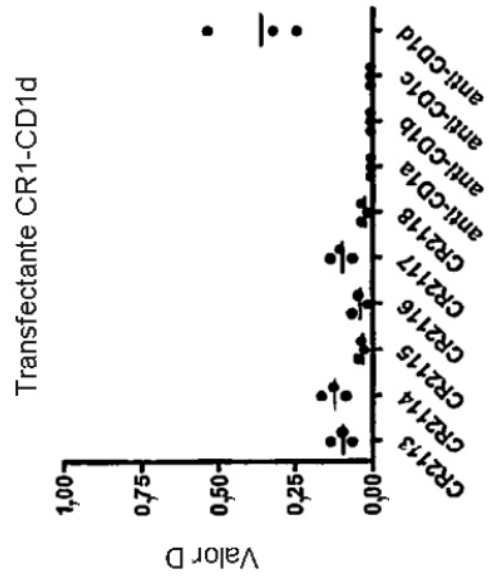
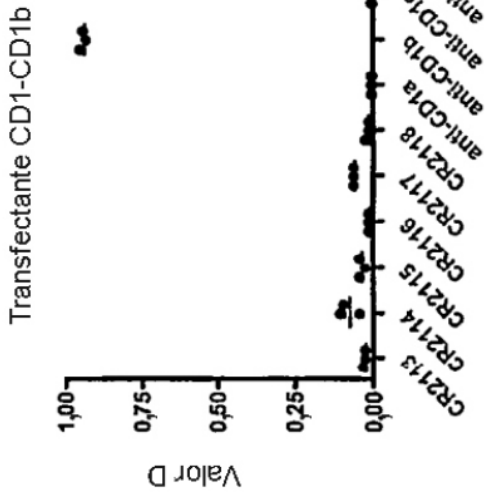
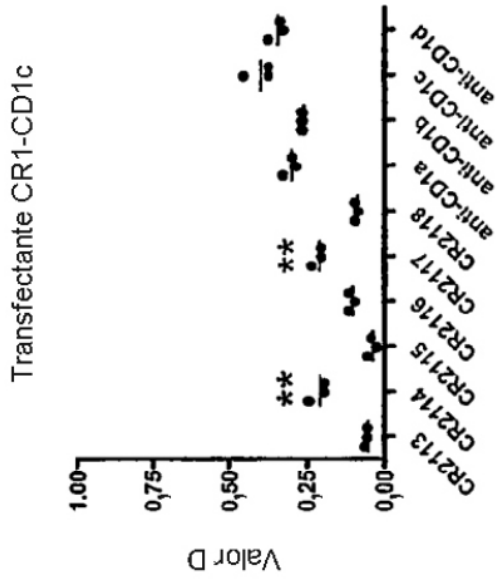


FIGURA 4

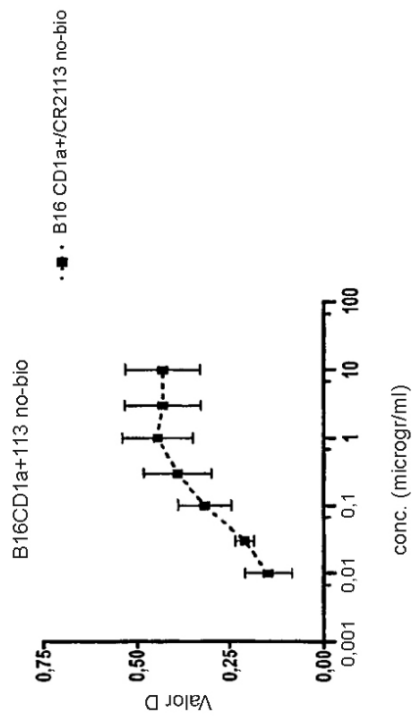
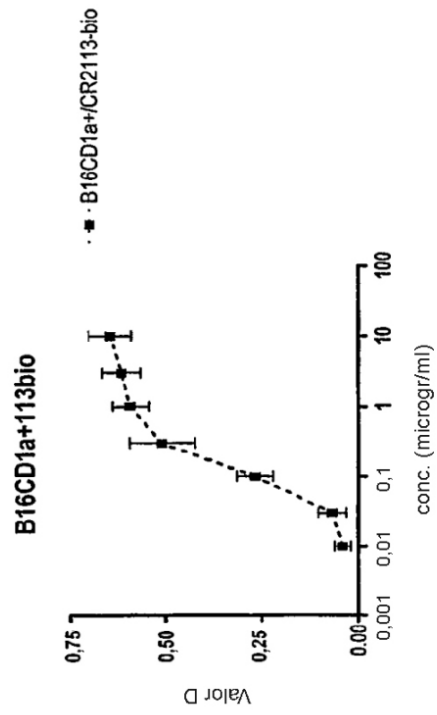


FIGURA 5A

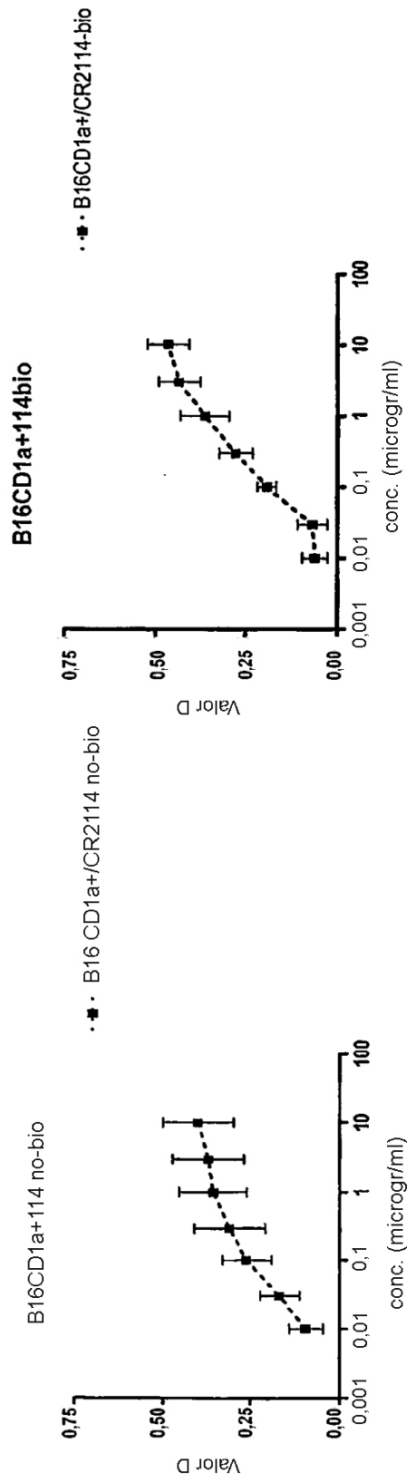


FIGURA 5B

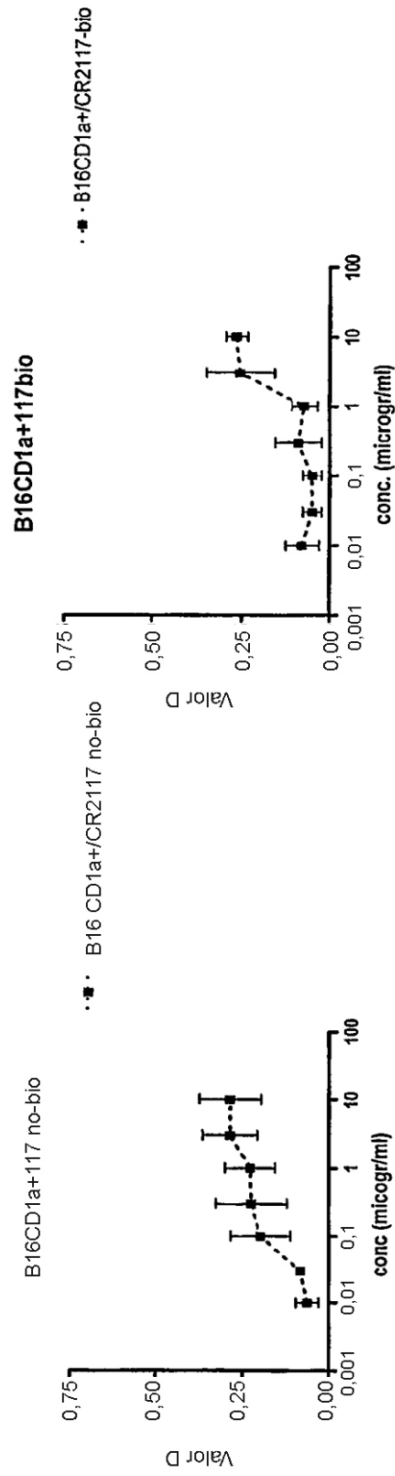


FIGURA 5C

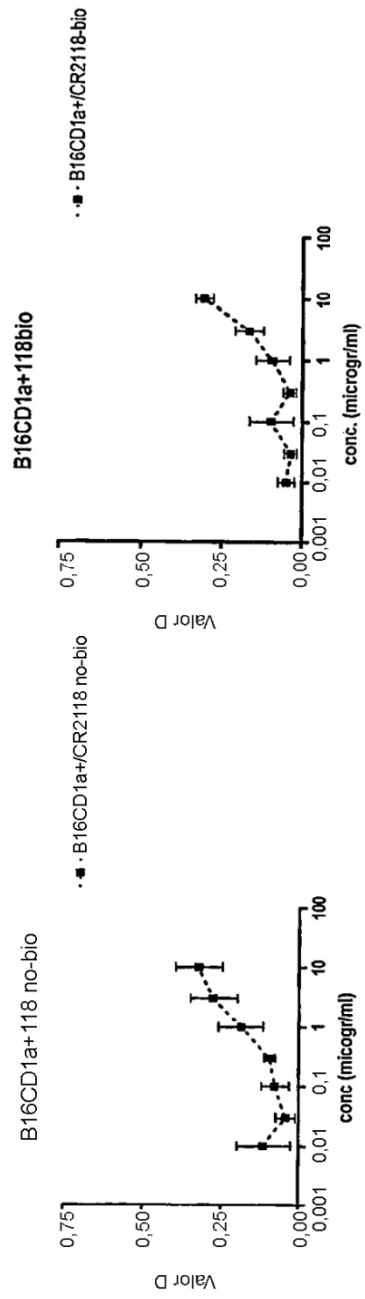
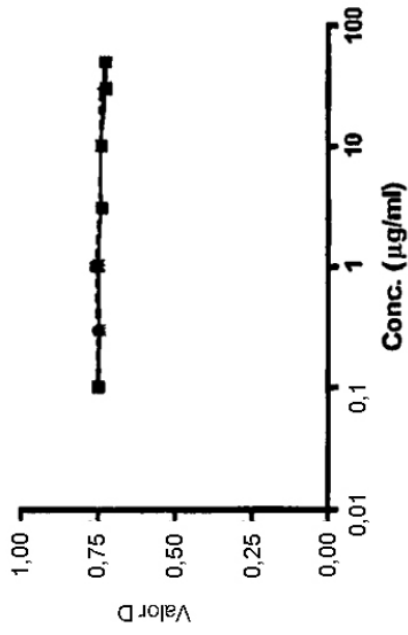
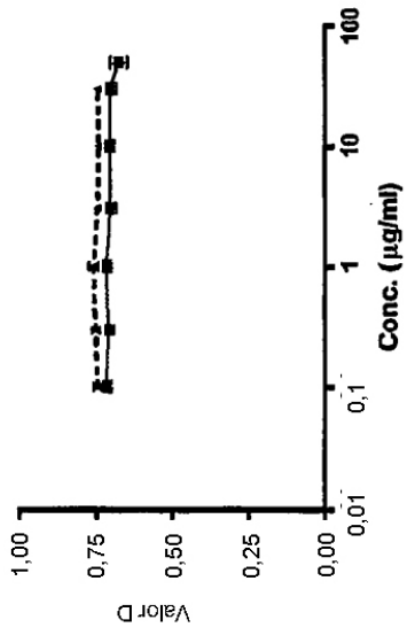


FIGURA 5D

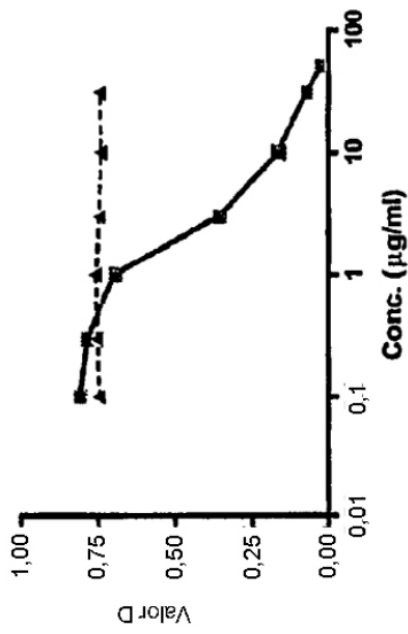
CR2114 no marcado frente a CR2113 marcado con biotina



CR2118 no marcado frente a CR2113 marcado con biotina



CR2113 no marcado frente a CR2113 marcado con biotina



CR2117 no marcado frente a CR2113 marcado con biotina

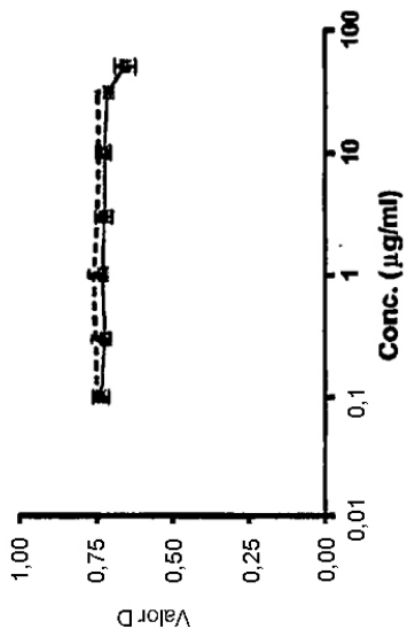
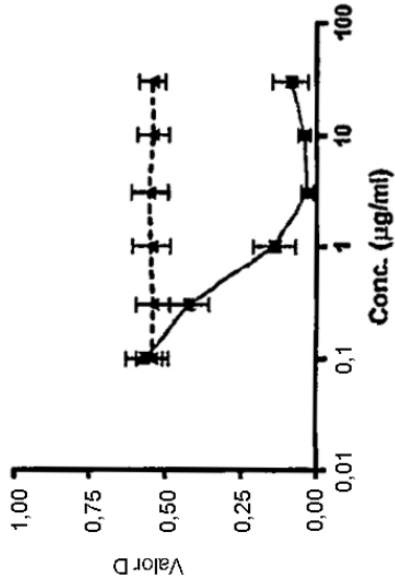
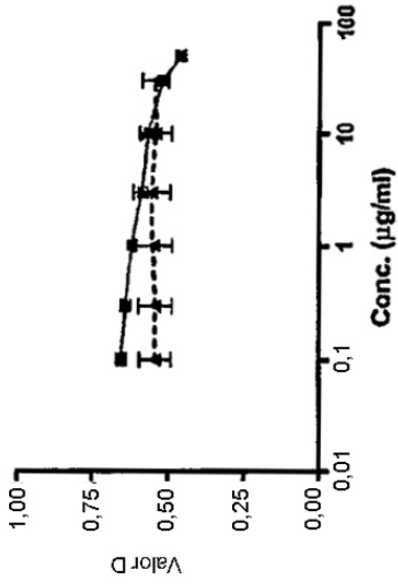


FIGURA 6A

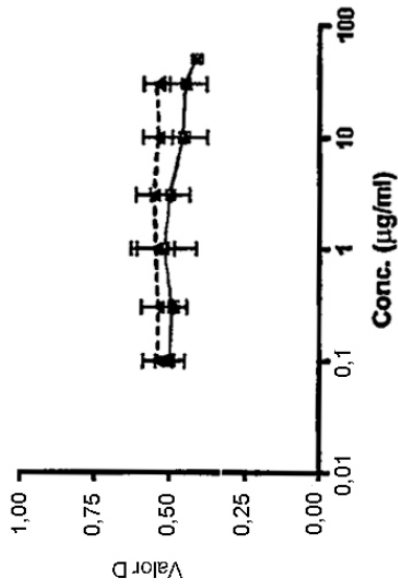
CR2113 no marcado frente a CR2114 marcado con biotina



CR2114 no marcado frente a CR2114 marcado con biotina



CR2117 no marcado frente a CR2114 marcado con biotina



CR2118 no marcado frente a CR2114 marcado con biotina

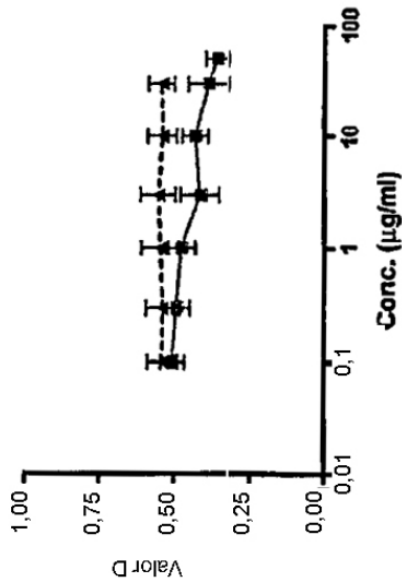
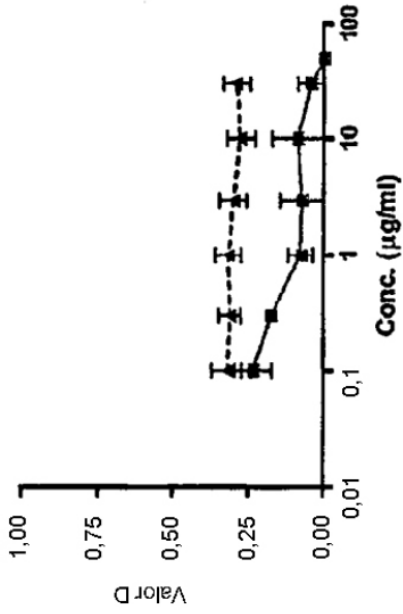
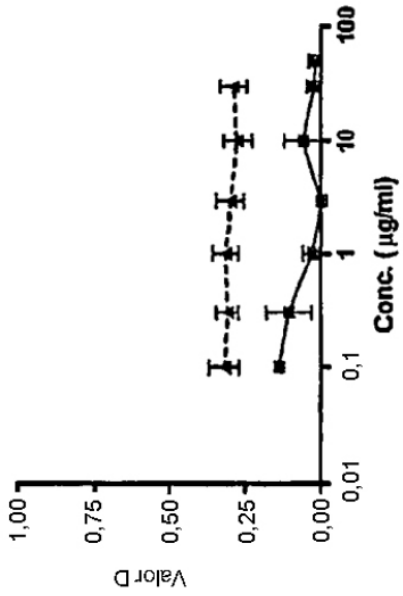


FIGURA 6B

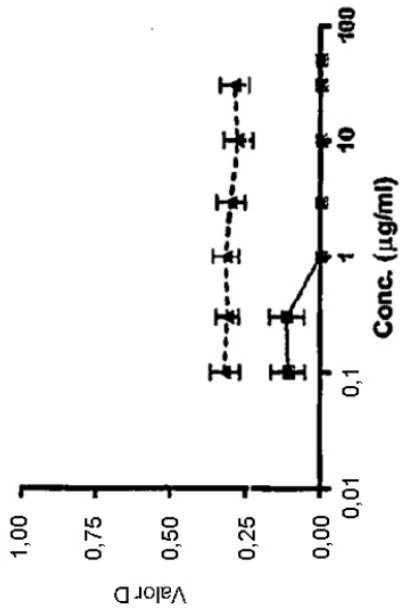
CR2113 no marcado frente a CR2117 marcado con biotina



CR2117 no marcado frente a CR2117 marcado con biotina



CR2118 no marcado frente a CR2117 marcado con biotina



CR2114 no marcado frente a CR2117 marcado con biotina

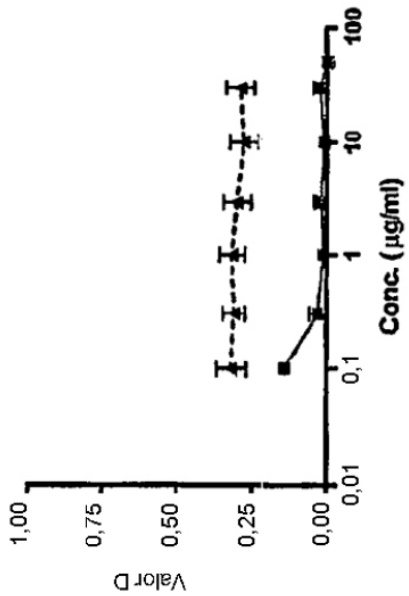
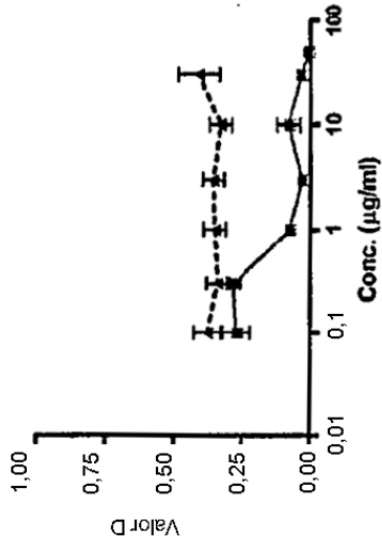
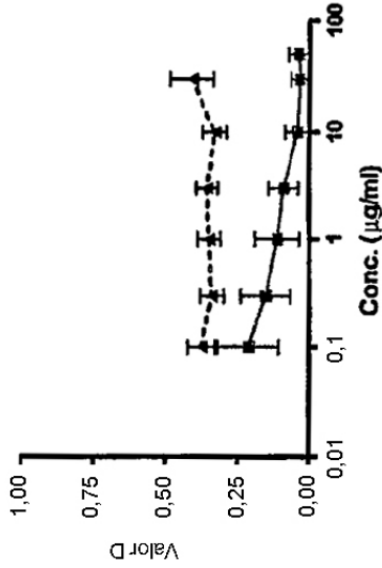


FIGURA 6C

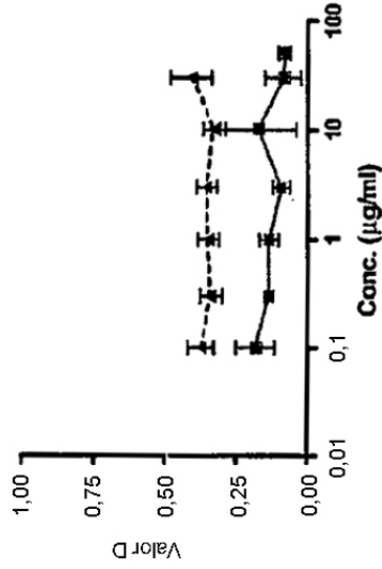
CR2113 no marcado frente a CR2118 marcado con biotina



CR2118 no marcado frente a CR2118 marcado con biotina



CR2117 no marcado frente a CR2118 marcado con biotina



CR2114 no marcado frente a CR2118 marcado con biotina

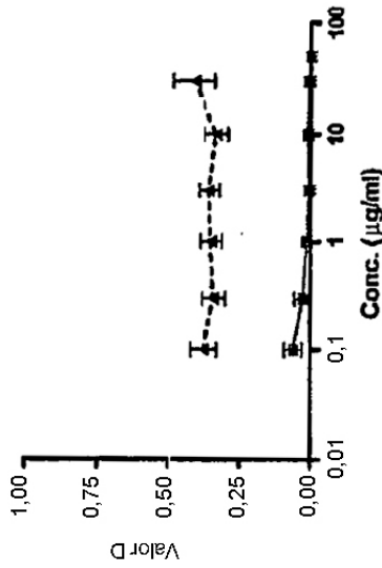


FIGURA 6D