

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 389 380**

51 Int. Cl.:
C07K 16/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06830633 .1**
96 Fecha de presentación: **14.12.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1960429**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.08.2008**

54 Título: **Inmunoglobulinas dirigidas contra NOGO**

30 Prioridad:
16.12.2005 GB 0525662

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
25.10.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
25.10.2012

73 Titular/es:
GLAXO GROUP LIMITED (100.0%)
GLAXO WELLCOME HOUSE, BERKELEY
AVENUE
GREENFORD, MIDDLESEX UB6 0NN, GB

72 Inventor/es:
CLEGG, STEPHANIE JANE;
ELLIS, JONATHAN HENRY;
GERMASCHEWSKI, VOLKER;
HAMBLIN, PAUL ANDREW;
KOPSIDAS, GEORGE;
MCADAM, RUTH y
PRINJHA, RABINDER KUMAR

74 Agente/Representante:
CARPINTERO LÓPEZ, Mario

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 2 389 380 T3

DESCRIPCIÓN

Inmunoglobulinas dirigidas contra NOGO

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a inmunoglobulinas, particularmente a anticuerpos que se unen a NOGO y neutralizan su actividad, a polinucleótidos que codifican tales anticuerpos, a formulaciones farmacéuticas que contienen dichos anticuerpos y al uso de tales anticuerpos en el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades neurológicas. Otros aspectos, objetos y ventajas de la presente invención se harán evidentes a partir de la siguiente descripción.

Antecedentes de la invención

10 En occidente, el ictus es una causa principal de muerte y discapacidad. Para el tratamiento del ictus no se ha aceptado ninguna terapia que no sea la del plasminógeno tisular (t-PA) el cual debe administrarse en las 3 horas de la aparición tras una exploración por tomografía computarizada (TC) para excluir hemorragia. Hasta ahora la mayoría de los agentes terapéuticos dirigidos hacia el tratamiento de ictus agudo (es decir, neuroprotección), se han implicado predominantemente en dirección a receptores de glutamato y sus rutas de señalización aguas abajo que se sabe que están implicadas en la muerte celular aguda. Sin embargo hasta ahora estas estrategias se han probado sin éxito en ensayos clínicos y a menudo se asocian con efectos secundarios limitantes de la dosis (Hill & Hachinski, The Lancet, 352: (supl III) 10-14 (1998)). Por lo tanto existe una necesidad de nuevas estrategias dirigidas a la mejoría de la muerte celular después del cese del flujo sanguíneo. La neuroprotección es la capacidad de un tratamiento para prevenir o mejorar la pérdida de células neuronales en respuesta a una lesión o proceso de enfermedad. Esto puede conseguirse dirigiendo a las neuronas, directa o indirectamente, impidiendo la pérdida de células gliales (incluyendo oligodendrocitos).

25 Tras la aparición del ictus, en algunos pacientes se observa cierto grado de recuperación funcional espontánea, lo que sugiere que el cerebro tiene la capacidad (aunque limitada) de restaurarse y/o remodelarse después de una lesión. Por lo tanto, tras la aparición de isquemia cerebral, los agentes que tienen la posibilidad de potenciar esta recuperación pueden permitir realizar la intervención mucho más tarde (posiblemente días). Los agentes que pueden ofrecer neuroprotección aguda y potenciar la recuperación funcional pueden proporcionar ventajas significativas sobre posibles estrategias neuroprotectoras actuales.

30 La enfermedad de Alzheimer (EA) se caracteriza por la presencia de dos características patognomónicas. Estas son las placas amiloideas y los ovillos neurofibrilares compuestos por el péptido beta-amiloide agregado (A β 40 y A β 42) y la tau hiperfosforilada respectivamente (Dawbarn & Allen 2001 Neurobiology of Alzheimer's Disease OUP).

35 Un estudio exhaustivo realizado en paciente ha demostrado una fuerte relación entre la acumulación de beta-amiloide y el deterioro cognitivo (Naslund y col, JAMA, 22/29 de marzo del 2000, Vol.283, No, 12, pág. 1571-1577). Esto coincide con estudios genéticos y epidemiológicos que sugieren que algunas mutaciones en los genes de la PPA (proteína precursora amiloidea) y de la presenilina pueden predisponer la aparición precoz de la EA, cuyas mutaciones también potencian los niveles del péptido A β 40 y A β 42, incluyendo su proporción.

40 La escisión de la proteína precursora amiloidea (PPA) transmembrana de tipo I por dos proteasas distintas denominadas beta- y gamma-secretasa es necesaria para la formación del péptido beta-amiloide. Se ha confirmado la identidad molecular de la beta-secretasa como la aspartil-proteasa Asp2/BACE1 (Hussain y col Mol. Cell. Neurosci. 16, 609-619 (2000); Vassar y col Science (1999), Oct, 22; 286 (5440):735-741). La naturaleza de la gamma-secretasa continua siendo fuente de cierto debate y probablemente consiste en un complejo de alto peso molecular que consiste al menos en las siguientes proteínas: presenilinas, Aph1, Pen2 y nicastrina (revisado en Medina y Dotti Cell Signalling 2003 15 (9) :829-41).

45 El procesamiento de la PPA en el SNC probablemente sucede dentro de diversos tipos de células incluyendo neuronas, oligodendrocitos, astrocitos y microglia. Aunque la tasa de procesamiento global de la PPA en estas células estará influenciada por el nivel de expresión relativo de PPA, BACE1/Asp2, presenilina-1 y -2, Aph1, Pen2 y nicastrina.

50 Adicionalmente, factores adicionales que regulan la localización subcelular de la PPA también pueden influir en este proceso, como se muestra mediante el hallazgo de que la mutación del motivo YENP, en el dominio citoplásmico de la PPA que bloquea su endocitosis, reduce la producción de beta-amiloide (Pérez y col 1999 J Biol Chem 274 (27) 18851-6). La retención del CTF-beta-PPA en el RE mediante la adición del motivo de retención KRQN es suficiente para reducir la producción amiloide en células transfectadas (Maléese y col, 2001, J. Biol. Chem. 276 (23) 20267-20279). A la inversa, la elevación de endocitosis, por sobre expresión de Rab5 es suficiente para elevar la secreción amiloide de células transfectadas (Grbovic y col 2003 J Biol Chem 278 (33) 31261-31268).

55 Coherente con estos descubrimientos estudios posteriores han demostrado que la reducción celular de niveles de colesterol (un factor de riesgo bien conocido para la AD) reduce la formación del beta-amiloide. Este cambio era dependiente de una endocitosis modificada como se demuestra mediante el uso de mutantes dinámicos dominantes

negativos (K44A) y la sobreexpresión de la proteína RN-Tre activadora de la GTPasa de Rab5 (Ehehalt y col 2003 J Cell Biol 160 (1) 113-123).

Los microdominios o plataformas (rafts) ricos en colesterol son también un sitio celular importante de producción de beta-amiloide y se ha observado que la PPA, BACE1 y todos los componentes del complejo gamma-secretasa residen transitoriamente en las plataformas (rafts). El entrecruzamiento de anticuerpos de PPA y BACE1 contra plataformas ricas en colesterol fueron capaces de elevar la producción de beta-amiloide (Ehehalt y col 2003 J Cell Biol. 160 (1) 113-123). De manera similar, la expresión de BACE1 anclada a GPI, que se dirige exclusivamente contra plataformas lipídicas, es capaz de elevar la escisión de la PPA y la producción de beta-amiloide (Cordy y col 2003 PNAS 100 (20) 11735-11740).

Actualmente se desconocen los mecanismos de recuperación funcional subyacentes después de un ictus u de otro suceso o enfermedad con daño neuronal. La proliferación de axones dañados o no se ha propuesto como un posible mecanismo. Sin embargo, aunque estudios realizados *in vivo* han demostrado que el tratamiento de lesiones de la médula espinal o ictus con factores neurotróficos produce una recuperación funcional y un grado de proliferación axonal potenciados, esto no demuestra ninguna relación directa entre el grado de proliferación axonal y la amplitud de recuperación funcional (Jakeman, y col. 1998, Exp. Neurol. 154: 170-184, Kawamata y col. 1997, Proc Natl Acad. Sci. USA, 94:8179-8184, Ribotta, y col. 2000, J Neurosci. 20: 5144-5152). Adicionalmente, la proliferación axonal requiere una neurona viable. En enfermedades, tales como ictus, que están asociadas con muerte celular ampliada, la potenciación de la recuperación funcional ofrecida por un agente determinado después de ictus puede por tanto realizarse mediante mecanismos distintos de la proliferación axonal tales como diferenciación de células madre endógenas, activación de rutas redundantes, cambios en la distribución de receptores o excitabilidad de neuronas o glia (Fawcett y Asher, 1999, Brain Res. Bulletin, 49: 377-391, Homer y Gage, 2000, Nature 407 963-970).

Se piensa que la capacidad limitada del sistema nervioso central (SNC) para restaurarse después de una lesión se debe en parte a moléculas dentro del entorno del SNC que tienen un efecto inhibitor sobre la proliferación axonal (crecimiento neurítico). Se piensa que la mielina del SNC contiene moléculas inhibitoras (Schwab ME y carona P (1988) J. Neurosci. 8, 2381-2193). Como supuestos inhibidores del crecimiento neurítico se han clonado e identificado dos proteínas mielínicas, la glicoproteína asociada a mielina (GAM) y la NOGO (Sato S. y col (1989) Biochem. Biophys. Res. Comm.163,1473-1480; McKerracher L y col (1994) Neuron 13, 805-811; Mukhopadhyay G y col (1994) Neuron 13, 757-767; Torigoe K y Lundborg G (1997) Exp. Neurology 150, 254-262; Schafer y col (1996) Neuron 16, 1107-1113; documento WO9522344; WO9701352; Prinjha R y col (2000) Nature 403, 383-384; Chen MS y col (2000) Nature 403, 434-439; GrandPre T y col (2000) Nature 403, 439-444; documento US005250414A; WO200005364A1; WO0031235).

Se han identificado tres formas de NOGO humana: NOGO-A que tiene 1192 restos de aminoácidos (Nº de acceso del GenBank AJ251383.); NOGO-B, una variante de corte y empalme que carece de los restos 186 a 1004 en el supuesto dominio extracelular (Nº de acceso de GenBank AJ251384) y una variante de corte y empalme más corta, NOGO-C, que también carece de los restos 186 a 1004 y también tiene un dominio amino terminal alternativo, más pequeño (Nº de acceso de GenBank AJ251385) (Prinjha y col (2000) citado anteriormente).

La inhibición de las proteínas inhibitoras del SNC tales como NOGO puede proporcionar un medio terapéutico para mejorar el daño neuronal y promover la restauración y el crecimiento neuronal posiblemente ayudando así a recuperarse de lesión neuronal tal como la sostenida en ictus. Los ejemplos de tales inhibidores de NOGO pueden incluir pequeñas moléculas, péptidos y anticuerpos.

Se ha descrito que un anticuerpo monoclonal murino, IN-1, suscitado contra NI-220/250, una proteína mielínica que es un fuerte inhibidor del crecimiento neurítico (y posteriormente se demostró que era un fragmento de NOGO-A), promueve la regeneración axonal (Caroni, P y Schwab, ME (1988) Neuron 1 85-96; Schnell, L y Schwab, ME (1990) Nature 343 269-272; Bregman, BS y col (1995) Nature 378 498-501 y Thallmair, M y col (1998) Nature Neuroscience 1 124-131) y la recuperación funcional después de lesión isquémica (Papadopoulos y col (2002) Ann Neurol 51 433-441). También se ha descrito que NOGO-A es el antígeno para IN-1 (Chen y col (2000) Nature 403 434-439). Bandtlow y col (European Journal of Biochemistry (1996) 468-475 241) describieron un fragmento Fab de IN-1 derivado de *Escherichia coli* y que era capaz de neutralizar la inhibición del crecimiento neurítico asociada a mielina. La administración del fragmento Fab de IN-1 o de IN-1 humanizado a ratas que se habían sometido a transección de la médula espinal también potenció la recuperación (Fiedler, M y col (2002) Protein Eng. 15 931-941; Brösamle, C y col (2000) J. Neurociencias 20 8061-8068).

En los documentos WO 04/052932 y W02005028508 se describen anticuerpos monoclonales que se unen a NOGO. El documento WO 04/052932 desvela un anticuerpo 11C7 murino que se une con alta afinidad a determinadas formas de NOGO humana.

La solicitud de patente WO05/061544 también desvela anticuerpos monoclonales de alta afinidad, incluyendo un anticuerpo 2A10 monoclonal murino y generalmente desvela sus variantes humanizadas, por ejemplo H1L11 (las secuencias para H1 y L11 se proporcionan en las SEC ID Nº 33 y 34 respectivamente (sólo las secuencias de la VH o VL)). Los anticuerpos desvelados se unen a la NOGO-A humana con alta afinidad. El anticuerpo 2A10 murino (y

sus variantes humanizadas con injertos en CDR) se caracteriza por las siguientes secuencias de las regiones determinantes de la complementariedad (CDR, por las siglas en inglés Complementarity Determining Region), (determinadas usando la metodología de Kabat (Kabat y col. (1991) "Sequences of proteins of immunological interest"; Quinta edición; US Department of Health and Human Services; publication del NIH (Instituto Nacional de la Salud) N° 91-3242)) dentro de sus regiones variables de la cadena ligera y pesada:

Tabla 1:secuencias de las CDR de cadenas ligeras del anticuerpo 2A10

CDR	Secuencia
L1	RSSKSLLYKDGKTYLN (SEC ID N°: 4)
L2	LMSTRAS (SEC ID N°: 5)
L3	QQLVEYPLT (SEC ID N°: 6)

Tabla 2: secuencias de las CDR de cadenas pesadas del anticuerpo 2A10

CDR	Secuencia
H1	SYWMH (SEC ID N°: 1)
H2	NINPSNGGTNYNEKFKS (SEC ID N°: 2)
H3	GQGY (SEC ID N: 3)

El documento WO05/061544 también desvela "análogos" de los anticuerpos que comprenden las CDR de las Tablas 1 y 2 anteriores, dichos "análogos" tienen la misma especificidad de unión al antígeno y/o capacidad neutralizante que la del anticuerpo donante del cual derivan.

A pesar de que la técnica proporciona anticuerpos anti-NOGO de alta afinidad, sigue existiendo un objetivo muy deseable el aislar y desarrollar anticuerpos monoclonales, alternativos o mejorados, terapéuticamente útiles, que se unan e inhiban la actividad de la NOGO humana.

El proceso de neurodegeneración es la base de muchas enfermedades/trastornos neurológicos que incluyen, pero sin limitación, enfermedades agudas tales como ictus (isquémico o hemorrágico), lesión cerebral traumática y lesión de la médula espinal así como enfermedades crónicas incluyendo la enfermedad de Alzheimer, demencias fronto-temporales (tauopatías), neuropatía periférica, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD), esquizofrenia, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), esclerosis múltiple, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple y miositis con cuerpos de inclusión. Por consiguiente los anticuerpos monoclonales anti-NOGO, y similares, de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de estas enfermedades/trastornos. La presente invención proporciona anticuerpos para el tratamiento de las enfermedades/trastornos mencionados anteriormente y se describe con detalle a continuación.

Breve Sumario de la Invención

La invención proporciona un anticuerpo aislado, o fragmento del mismo, capaz de unirse a la NOGO-A humana, que comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEC ID N°: 47 y una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEC ID N°: 14.

El anticuerpo o fragmento del mismo puede formatearse de una manera de inmunoglobulina convencional (por ejemplo, IgG, IgA, IgM, etc. humana) o en cualquier otro fragmento o formato "de tipo anticuerpo" que se una a la NOGO-A humana (para un resumen de formatos de "anticuerpos" alternativos véase Holliger y Hudson, Nature Biotechnology, 2005, Vol. 23, N° 9, 1126-1136)).

Los anticuerpos de la presente invención, o fragmentos de los mismos, conservan la actividad de unión a la NOGO humana de los anticuerpos que comprenden la H3 de la CDR: GQGY, en cuanto a su actividad medida en experimentos ELISA y Biacore y en algunos casos, en estos experimentos, la actividad aumenta.

Regiones variables de cadena pesada humana o humanizada que contienen G95M (numeración de sustitución por Kabat)

Los anticuerpos o fragmentos de los mismos de la presente invención comprenden las CDR definidas en la Tabla 3 (definidas por Kabat):

Tabla 3:

CDR	Secuencia
H1	SYWMH (SEC ID N°: 1)
H2	NINPSNGGTNYNEKFKS (SEC ID N°: 2)
H3	MQGY (SEC ID N°: 45)

Los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 66 (región variable H98) que adicionalmente comprende sustituciones en las posiciones 48, 67, 68 y 79; en la que cada resto aminoacídico sustituido se reemplaza por el resto aminoacídico en la posición equivalente en la SEC ID N° 7 (la región variable de la cadena pesada del anticuerpo donante 2A10).

En este contexto las sustituciones que se describen son equivalentes en concepto a “retro-mutaciones” en las que los restos aminoacídicos del armazón humano en posiciones específicas dentro de la secuencia H98 están retro-mutados por los restos de aminoácidos en la posición equivalente dentro de la secuencia del anticuerpo donante 2A10.

Salvo que de otra manera en el presente documento se indique específicamente lo contrario, cuando en este documento se menciona una posición numérica de un resto aminoacídico encontrado dentro de una secuencia específica, la “posición 12”, se refiere, por ejemplo, a que el lector experto asigna el primer aminoácido en la secuencia en la posición “1” y cuenta desde la posición 1 e identifica el aminoácido que está en la posición deseada, en este ejemplo el resto aminoacídico doce en la secuencia. El lector experto observará que este sistema de numeración no se corresponde con el sistema de numeración de Kabat, que con frecuencia se usa para definir las posiciones aminoacídicas dentro de las secuencias de los anticuerpos.

Para una afinidad de unión óptima, se observó que para la humanización del anticuerpo de ratón 2A10 (la VH a la cual corresponde la SEC ID N° 7) el par de restos aminoacídicos en las posiciones 48 y 68, debería ser I y A respectivamente (como existe en 2A10) o M y V respectivamente (como existe en H98). Se espera que el hallazgo anterior también sea pertinente para la humanización de la variante G95M de 2A10.

La siguiente tabla incluye detalles de tres regiones diferentes variables de cadena pesada (VH). Cada una de las VH desveladas está basada en la VH de H98 (SEC ID N° 66) que adicionalmente comprende las sustituciones mencionadas en la tabla (Tabla 4) en las que el resto H98 en la posición pertinente se sustituye por el resto 2A10 en esa posición (en la tabla, “-” significa que no existe sustitución en esa posición, y por tanto el resto permanece como en la secuencia de H98):

Tabla 4

VH nueva (SEC ID N° X)	Resto numérico N°	38	40	48	67	68	70	72	74	79
	N° Kabat	38	40	48	66	67	69	71	73	78
	2A10	K	R	I	K	A	L	V	K	A
	H98	R	A	M	R	V	M	R	T	V
H26 (47)		-	-	I	-	A	-	-	-	A
H27 (48)		K	R	I	K	A	L	V	K	A
H28 (49)		-	-	I	K	A	-	-	-	A

Por lo tanto, las regiones variables de la cadena pesada (VH) descritas en el presente documento son la VH de H26 (SEC ID N° 47), la VH de H27 (SEC ID N° 48) y la VH de H28 (SEC ID N° 49)

SEC ID 47: Construcción H26 humanizada de VH

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNIN
PSNGGTNYNEKFKSRATMTRDTSTAYMELSSLRSED TAVYYCELMQGYWG
QGTLVTVSS

SEC ID 48: Construcción H27 humanizada de VH

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVKRPGQGLEWIGNIN
PSNGGTNYNEKFKSKATLTVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCELMQGYWG
QGTLVTVSS

SEC ID 49: Construcción H28 humanizada de VH

**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNIN
PSNGGTNYNEKFKSKATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELMQGYWG
QGTLTVSS**

Regiones variables de cadena pesada humana o humanizada que incluyen G101S (numeración de sustitución por Kabat)

- 5 En el presente documento también se describe una región variable de la cadena pesada humana o humanizada que comprende las CDR definidas en la Tabla 5:

Tabla 5:

CDR	De acuerdo con Kabat
H1	SYWMH (SEC ID N°: 1)
H2	NINPSNGGTNYNEKFKS (SEC ID N°: 2)
H3	GQSY (SEC ID N°: 62)

- 10 Las CDR de la Tabla 5 pueden incorporarse dentro de una secuencia de la región variable de la cadena pesada humana. En otra realización, la región variable de la cadena pesada humanizada comprende las CDR indicadas en la Tabla 5 con un armazón de anticuerpo aceptor que tiene una identidad mayor del 40% en las regiones marco conservadas, o una identidad mayor del 50%, o mayor del 60% o mayor del 65% con respecto a la región variable de la cadena pesada del anticuerpo donante 2A10 murino (SEC ID N° 7).

En una construcción, las CDR de la Tabla 5 se insertan en una región variable de la cadena pesada humana para dar la siguiente secuencia (H99):

- 15 **QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNI
NPSNGGTNYNEKFKSRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCELGQSYW
GQGTTLTVSS (SEC ID 61: Construcción H99 humanizada de VH de 2A10)**

- 20 En otras construcciones, se añaden retromutaciones adicionales a la secuencia de VH de H99 en una cualquiera de las posiciones (indicadas por las posiciones de los restos numéricos) 38, 40, 48, 67, 68, 70, 72, 74 o 79; en la que cada resto aminoacídico sustituido se reemplaza con resto aminoacídico en la posición equivalente en la SEC ID N° 7 (la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 2A10 donante) y la numeración de las sustituciones está comprendida entre 1 y 9. En otras construcciones el número de sustituciones es de 1 ó 2, ó 3, ó 4, ó 5, ó 6, ó 7, u 8 ó 9. La VH de H99 es el equivalente de la VH de H1 (SEC ID N° 33) diferenciándose solo por que en H99, la H3 de la CDR es GQSY en vez de GQGY como se encuentra en H1.

- 25 Para una afinidad de unión óptima, se observó que para la humanización del anticuerpo de ratón 2A10 (la VH a la cual corresponde la SEC ID N° 7) el par de restos aminoacídicos en las posiciones 48 y 68, debería ser I y A respectivamente (como existe en 2A10) o M y V respectivamente (como existe en H98). Se espera que el hallazgo anterior también sea pertinente para la humanización de la variante G95M de 2A10.

- 30 En una construcción las retromutaciones se localizan en las posiciones indicadas en la siguiente Tabla 6 en la que el resto H99 en la posición pertinente se sustituye con el resto 2A10 en esa posición (en la tabla, "-" significa que no existe sustitución en esa posición, y por tanto el resto permanece como en la secuencia de H1):

Tabla 6

Nueva VH (SEC ID N° X)	Resto numérico N°	38	40	48	67	68	70	72	74	79
	N° Kabat	38	40	48	66	67	69	71	73	78
	2A10	K	R	I	K	A	L	V	K	A
	H99	R	A	M	R	V	M	R	T	V
H100 (63)		-	-	I	-	A	-	-	-	A
H101 (64)		K	R	I	K	A	L	V	K	A
H102 (65)		-	-	I	K	A	-	-	-	A

- 35 *Anticuerpos o fragmentos que comprenden las regiones variables de la cadena pesada humana o humanizada y las regiones variables de la cadena ligera*

Las construcciones VH descritas en el presente documento pueden emparejarse con una cadena ligera para formar una unidad de unión a NOGO-A humana (Fv) en cualquier formato, incluyendo un formato de anticuerpo IgG convencional que tiene secuencias de la cadena pesada del dominio variable y constante de longitud completa (FL, *Full Length*). Los ejemplos de secuencias de la cadena pesada de IgG1 de longitud completa (FL) comprenden las construcciones de VH de la presente invención y mutaciones inactivadoras en las posiciones 235 y 237 (numeración de acuerdo con el índice de EU) para hacer que el anticuerpo no lítico sea las SEC ID N° 53, 54 y 55.

SEC ID 53: Construcción H26 humanizada de cadena pesada

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWM
HWVROAPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSRATMTRDTSTSTAYMELSSL
RSEDTAVYYCELMQGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD
ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.

SEC ID 54: Construcción H27 humanizada de cadena pesada

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWM
HWVKQRPQGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATLTVDKSTSTAYMELSSLR
SEDTAVYYCELMQGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEC ID 55: Construcción H28 humanizada de cadena pesada

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWM
HWVROAPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATMTRDTSTSTAYMELSSLR
SEDTAVYYCELMQGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

La secuencia de la región variable de la cadena ligera que forma un Fv con las secuencias de la región variable de la cadena pesada descritas anteriormente pueden ser cualquier secuencia que permita que Fv se la NOGO-A humana. Por ejemplo, la región variable de la cadena ligera puede ser la cadena ligera de 2A10 (véase el documento WO 05/061544), cuya región variable de la cadena ligera se proporciona en el presente documento como SEC ID N° 8, o puede ser una variante humanizada de la misma. Las variantes humanizadas de la cadena ligera de 2A10 preferentemente contienen todas las CDR de la región variable de la cadena ligera que se describen en la Tabla 1 injertadas sobre un armazón aceptor de la región variable de la cadena ligera humana. Las regiones variables de la cadena ligera humanizada incluyen L11 (SEC ID N° 34), L13 (SEC ID N° 13) o L16 (SEC ID N° 14). En la Tabla 7 se proporcionan las regiones variables de la cadena ligera alternativas que se basan en L13 y L16, que comprenden sustituciones específicas en las posiciones de Kabat 37 y/o 45.

Tabla 7

Descripción	SEC ID N°	Secuencia
L100 (L13 + Q37R)	67	DIVMTQSPLSPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGTKYTLNWFQR RPGQSPQLLIYLMSTRASGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEA EDVGVIYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIK

(continuación)

Descripción	SEC ID Nº	Secuencia
L101 (L13 + Q45R)	68	DIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFQQ RPGQFPRLLIYLMSTRASGVDPDRFSGGGSGTDFTLKIRVEAE DVGVIYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIK
L102 (L13 + Q37R/G145R)	69	DIVMTQSPLSLPVTLQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFRQ RPGQSPQLLIYLMSTRASGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAE DVGVIYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIK
L103 (L16 + Q37R)	70	DIVMTQSPLSNPVTLGQPVISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFRQ RPGQSPQLLIYLMSTRASGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEA EDVGVIYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIK
L104 (L16 + Q45R)	71	DIVMTQSPLSNPVTLGQPVISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQ RPGQSPRLLIYLMSTRASGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAE DVGVIYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIK
L105 (L16 + Q37R/Q45R)	72	DIVMTQSPLSNPVTLGQPVISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFRQ RPGQSPQLLIYLMSTRASGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAE DVGVIYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIK

Las secuencias de la cadena ligera de longitud completa (FL) son L11FL (SEC ID Nº 36), L13 FL (SEC ID Nº 17) o L16 FL (SEC ID Nº 18).

Composiciones farmacéuticas

- 5 Un aspecto adicional de la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-NOGO de la presente invención o fragmento funcional o equivalente del mismo junto con un diluyente o transportador farmacéuticamente aceptable.

- 10 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-NOGO o fragmento del mismo de la presente invención para el tratamiento o profilaxis del ictus (particularmente ictus isquémico) y otras enfermedades neurológicas, en particular enfermedad de Alzheimer, y tratamiento de un paciente que padece un traumatismo mecánico en el sistema nervioso central (tal como lesión en la médula espinal).

- 15 En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un anticuerpo anti-NOGO de la invención o un fragmento funcional del mismo en la preparación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis del ictus (particularmente ictus isquémico) y otras enfermedades neurológicas, en particular enfermedad de Alzheimer y tratamiento de un paciente que padece un traumatismo mecánico en el sistema nervioso central (tal como lesión en la médula espinal).

Otros aspectos y ventajas de la presente invención se describen adicionalmente en la descripción detallada y en las realizaciones preferidas de la misma.

Descripción detallada de la invención

- 20 El anticuerpo o fragmento del mismo puede por tanto comprender las regiones VH de la invención formateadas en un anticuerpo de longitud completa, un fragmento (Fab')₂, un fragmento Fab o equivalente del mismo (tal como scFv, bi-tri- o tetra-cuerpos, Tandabs, etc.), cuando se emparejan con una cadena ligera apropiada. El anticuerpo puede ser una IgG1, IgG2, IgG3, IgG4; o IgM; IgA, IgE o IgD o una de sus variantes modificada. Por consiguiente, el dominio constante de la cadena pesada del anticuerpo puede seleccionarse. El dominio constante de la cadena ligera puede ser un dominio constante kappa o lambda. Adicionalmente, el anticuerpo puede comprender
- 25 modificaciones de todas las clases por ejemplo dímeros de IgG, mutantes de Fc que ya no se unan más a los receptores de Fc o medien en la unión de Clq. El anticuerpo también puede ser un anticuerpo quimérico del tipo descrito en el documento WO86/01533 que comprende una región de unión a antígeno y una región que no es inmunoglobulina.

La región constante se selecciona de acuerdo con la funcionalidad requerida. Normalmente, una IgG1 demostrará capacidad lítica mediante la unión al complemento y/o mediará la CCDA (citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos). Si se requiere un anticuerpo bloqueante no citotóxico, se preferirá una IgG4. Sin embargo, los anticuerpos de IgG4 pueden demostrar inestabilidad en la producción y por lo tanto puede ser más preferible modificar la IgG1 generalmente más estable. En el documento EP0307434 se describen modificaciones sugeridas, las modificaciones preferidas se incluyen en las posiciones 235 y en las bases de datos, por ejemplo, la base de datos de KABAT®, base de datos de Los Alamos y base de datos de Swiss Protein, por homología con las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos del anticuerpo donante (en este caso, el anticuerpo donante murino 2A10). Un anticuerpo humano caracterizado por una homología con las regiones marco conservadas del anticuerpo donante (sobre una base de aminoácidos) puede ser adecuado para proporcionar una región constante de la cadena pesada y/o una región marco conservada variable de cadena pesada para la inserción de las CDR donantes (véase la Tabla para las CDR de 2A10 para la inserción en el armazón aceptor). De manera similar, puede seleccionarse un anticuerpo aceptor adecuado capaz de donar regiones marco conservadas constantes o variables de la cadena ligera. Debe observarse que no es necesario originar las cadenas pesada y ligera del anticuerpo aceptor del mismo anticuerpo aceptor. La técnica anterior describe diversas maneras de producir dichos anticuerpos humanizados - véanse, por ejemplo, los documentos EP-A-0239400 y EP-A-054951.

La expresión "anticuerpo donante" se refiere a un anticuerpo no humano que aporta las secuencias de aminoácidos de sus regiones variables, las CDR, u otros fragmentos funcionales o análogos de los mismos al anticuerpo humanizado y por lo tanto proporciona el anticuerpo humanizado con la especificidad antigénica y actividad neutralizante características del anticuerpo donante.

La expresión "anticuerpo aceptor" se refiere a un anticuerpo heterólogo con respecto al anticuerpo donante, que proporciona las secuencias de aminoácidos de sus regiones marco conservadas de cadena pesada y/o ligera y/o sus regiones constantes de cadena pesada y/o ligera al anticuerpo humanizado. El anticuerpo aceptor puede derivar de cualquier mamífero siempre que sea no inmunogénico en seres humanos. Preferentemente el anticuerpo aceptor es un anticuerpo humano.

Como alternativa, la humanización puede conseguirse mediante un proceso de "sustitución en superficie". Un análisis estadístico de regiones únicas variables de la cadena pesada y ligera de la inmunoglobulina humana y murina reveló que los patrones exactos de los restos expuestos son diferentes en los anticuerpos humanos y murinos, y que la mayoría de las posiciones individuales en superficie tienen una fuerte preferencia por un pequeño número de restos diferentes (véase Padlan E.A. y col; (1991) Mol. Immunol. 28, 489-498 y Pedersen J.T. y col (1994) J. Mol. Biol. 235, 959-973). Por lo tanto es posible reducir la inmunogenicidad de un Fv no humano reemplazando restos expuestos en sus regiones marco conservadas que se diferencian de aquellas normalmente encontradas en los anticuerpos humanos. Dado que la antigenicidad de las proteínas puede correlacionarse con la accesibilidad superficial, el reemplazo de los restos de superficie puede ser suficiente para hacer "invisible" la región variable de ratón al sistema inmunitario humano (véase también Mark G.E. y col (1994) en Handbook of Experimental Pharmacology vol. 113: The pharmacology of monoclonal Antibodies, Springer-Verlag, páginas 105-134). Este procedimiento de humanización se denomina "revestimiento en chapado" porque solo se modifica la superficie del anticuerpo, los restos de soporte permanecen inalterados. En el documento WO04/006955 se expone una estrategia alternativa adicional.

Las "CDR" se definen como las secuencias de aminoácidos de la región determinante de la complementariedad de un anticuerpo que son las regiones hipervariables de las cadenas pesada y ligera de la inmunoglobulina. Véase, por ejemplo, Kabat y col., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 4ª edición, U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes Nacionales of Health (1987). En la parte variable de una inmunoglobulina hay tres CDR (o regiones CDR) de cadena ligera y tres de cadena pesada. Por tanto, las "CDR" como se usa en el presente documento se refiere a las tres CDR de cadena pesada, o a las tres CDR de cadena ligera (o a todas las CDR tanto de cadena ligera como pesada, si fuera apropiado). La estructura y el plegamiento de las proteínas del anticuerpo pueden significar que otros restos se consideran que forma parte de la región de unión al antígeno y así lo entendería un experto en la técnica. Véase, por ejemplo, Chothia y col, (1989) Conformations of immunoglobulin hypervariable regions; Nature 342, págs. 877-883.

Un anticuerpo biespecífico es un anticuerpo que tiene especificidades de unión por al menos dos epítopes diferentes. En la técnica se conocen procedimientos para fabricar tales anticuerpos. Tradicionalmente, la producción recombinante de anticuerpos biespecíficos se basa en la co-expresión de dos pares de cadena L - cadena H de inmunoglobulina, en la que las dos cadenas H tienen diferentes especificidades de unión véase Millstein y col, Nature 305 537-539 (1983), el documento WO93/08829 y Trautnecker y col EMBO, 10, 1991, 3655-3659. Debido al surtido aleatorio de las cadenas H y L, se produce una posible mezcla de diez estructuras de anticuerpo diferentes de las cuales sólo una tiene la especificidad de unión deseada. Una estrategia alternativa implica la fusión de los dominios variables con las especificidades de unión deseadas con la región constante de la cadena pesada que comprende al menos parte de la región bisagra, regiones CH2 y CH3. Se prefiere que la región CH1 contenga el sitio necesario para la unión de la cadena ligera presente en al menos una de las fusiones. El ADN que codifica estas fusiones, y si se desea la cadena L, se inserta en vectores de expresión separados y después se cotransfecta en un organismo hospedador adecuado. Esto es posible insertando las secuencias codificantes de dos o las tres cadenas en un vector de expresión. En una estrategia preferida, el anticuerpo biespecífico está compuesto por una

cadena H con una primera especificidad de unión en un grupo y proporcionando en el otro grupo un par de cadenas H-L, una segunda especificidad de unión, véase el documento WO94/0469. Véase también Suresh y col Methods in Enzymology 121, 210, 1986.

En el presente documento también se describe un anticuerpo terapéutico biespecífico en el que al menos una especificidad de unión de dicho anticuerpo se une a la NOGO humana en el epítipo descrito en la SEC ID N° 60. El anticuerpo biespecífico puede comprender la secuencia MQGY (SEC ID N° 45) de la H3 de la CDR de la región variable de la cadena pesada. El anticuerpo biespecífico puede comprender los siguientes pares de regiones variables de cadena pesada y ligera: H27L16 (SEC ID N° 48 + SEC ID N° 14), H28L13 (SEC ID N° 49 + SEC ID N° 13) o H28L16 (SEC ID N° 49 + SEC ID N° 14).

Los anticuerpos de la presente invención pueden producirse por transfección de una célula huésped con un vector de expresión que comprenda la secuencia codificante para los anticuerpos de la invención. Un vector de expresión o un plásmido recombinante se produce colocando estas secuencias codificantes para el anticuerpo en asociación operativa con secuencias de control reguladoras convencionales capaces de controlar la replicación y expresión en, y/o secreción de, una célula huésped. Las secuencias reguladoras incluyen secuencias promotoras, por ejemplo, el promotor del CMV y secuencias señal, que pueden derivar de otros anticuerpos conocidos. De manera similar, puede producirse un segundo vector de expresión que tenga una secuencia de ADN que codifique una cadena ligera o pesada complementaria del anticuerpo. Preferentemente este segundo vector de expresión es idéntico al primero excepto en lo que respecta a los marcadores de selección y a las secuencias codificantes, para garantizar, tanto como sea posible, que cada cadena polipeptídica se exprese funcionalmente. Como alternativa, las secuencias codificantes de la cadena pesada y ligera para el anticuerpo modificado pueden encontrarse en un solo vector.

Una célula huésped seleccionada se co-transfecta mediante técnicas convencionales tanto con el primer como con el segundo vector (o simplemente transfectarse mediante un solo vector) para crear la célula huésped transfectada de la invención que comprende las dos cadenas ligera y pesada sintéticas o recombinantes. La célula transfectada se cultiva después mediante técnicas convencionales para producir el anticuerpo de la invención modificado por ingeniería genética. El anticuerpo que incluye la asociación de ambas cadenas pesada y/o ligera recombinantes se selecciona del cultivo mediante un ensayo apropiado, tal como ELISA o RIA. Para construir otros anticuerpos y moléculas modificados pueden emplearse técnicas convencionales similares.

Un sistema de expresión útil es un sistema glutamato sintetasa (tal como el comercializado por Lonza Biologics), particularmente en el que la célula huésped es CHO o NS0 (véase más adelante). El polinucleótido que codifica el anticuerpo se aísla y se secuencia fácilmente usando procedimientos convencionales (por ejemplo, sondas oligonucleotídicas). Los vectores que pueden usarse incluyen plásmidos, virus, fagos, transposones, minicromosomas de plásmidos que son una realización típica. Generalmente tales vectores incluyen adicionalmente una secuencia señal, un origen de replicación, uno o más genes marcadores, un elemento potenciador, un promotor y secuencias de terminación de la transcripción unidas operativamente al polinucleótido de cadena ligera y/o pesada para facilitar la expresión. El polinucleótido que codifica las cadenas ligera y pesada puede insertarse en vectores separados e introducirse (por ejemplo, por electroporación) en la misma célula huésped o, si se desea, tanto la cadena pesada como la cadena ligera pueden insertarse en el mismo vector para la transfección en la célula huésped. Por tanto, en el presente documento también se describe un proceso de construcción de un vector que codifica las cadenas ligera y/o pesada de un anticuerpo terapéutico, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la invención, cuyo procedimiento comprende insertar en un vector, un polinucleótido que codifica una cadena ligera y/o una cadena pesada de un anticuerpo terapéutico de la invención.

En el presente documento también se describe un polinucleótido que codifica una región variable de la cadena pesada humanizada que tiene la secuencia expuesta como SEC ID N°: 47, 48 ó 49, y un polinucleótido que codifica una cadena pesada humanizada que tiene la secuencia expuesta como SEC ID N°: 53, 54 ó 55.

Será inmediatamente evidente para los expertos en la técnica que, debido a la redundancia del código genético, también se encuentren disponibles en el presente documento polinucleótidos alternativos con respecto a los desvelados en el presente documento que codificarán a los polinucleótidos de la invención.

Para las etapas de clonación y subclonación empleadas en los procedimientos y en la construcción de las composiciones de la presente invención un experto en la técnica puede seleccionar vectores adecuados. Por ejemplo puede usarse la serie pUC convencional de vectores de clonación. Un vector, pUC19, se encuentra disponible en el mercado a partir de distribuidoras, tales como Amersham (Buckinghamshire, Reino Unido) o Pharmacia (Uppsala, Suecia). Adicionalmente, para la clonación, puede usarse cualquier vector que pueda replicarse fácilmente, que tenga abundantes sitios de clonación y genes de selección (por ejemplo, resistencia a antibióticos) y que se manipule fácilmente. Por tanto, la selección del vector de clonación no es un factor limitante en la presente invención. Otras secuencias vectoriales preferibles incluyen una secuencia señal poli A, tal como de la hormona del crecimiento bovina (HCB) y la secuencia promotora de la betaglobina (betaglopro). Los vectores de expresión útiles en el presente documento pueden sintetizarse mediante técnicas bien conocidas por los expertos en esta técnica. Los genes de selección típicos codifican proteínas que (a) confieren resistencia a antibióticos o a otras toxinas, por ejemplo, ampicilina, neomicina, metotrexato o tetraciclina o (b) complementan deficiencias auxiotróficas o aportan nutrientes no disponibles en los medios complejo. El esquema de selección puede implicar detener el

crecimiento de la célula huésped. Las células, que se han transformado con éxito con los genes que codifican el anticuerpo terapéutico de la presente invención, sobreviven debido, por ejemplo, a la resistencia a fármacos conferida por el marcador de selección. Otro ejemplo es el marcador de selección denominado DHFR en el que los transformantes se cultivan en presencia de metotrexato. Las células CHO son una línea celular particularmente útil para la selección del DHFR. Los procedimientos de selección de células huésped transformadas y amplificación del número de copias de células del transgen incluyen el uso del sistema de DHFR, véase Kaufman RJ y col J. Mol. (1982) 159, 601-621, para una revisión, véase Werner RG, Noe W, K Kopp, Schluter M, "Appropriate mammalian expression systems for biopharmaceuticals", *Arzneimittel-Forschung*. 48 (8) :870-80, agosto 1998. Un ejemplo adicional es el sistema de expresión de la glutamato sintetasa (Lonza Biologics). Un gen de selección adecuado para su uso en levaduras es el gen *trp1*; véase Stinchcomb y col *Nature* 282, 38, 1979.

Los componentes de tales vectores, por ejemplo, replicones, genes de selección, potenciadores, promotores, secuencias señal y similares, pueden obtenerse a partir de fuentes comerciales o naturales o sintetizarse mediante procedimientos conocidos para su uso en la dirección de la expresión y/o secreción del producto del ADN recombinante en un huésped seleccionado. Para este fin también pueden seleccionarse otros vectores de expresión apropiados de los que se conocen numerosos tipos en la técnica para expresión en mamíferos, bacterias, insectos, levaduras y hongos.

La presente invención también incluye una línea celular transfectada con un plásmido recombinante que contiene las secuencias codificantes de los anticuerpos o equivalentes de la presente invención. También son convencionales las células huésped útiles para la clonación y otras manipulaciones de estos vectores de clonación. Sin embargo, más deseablemente, se usan células de diversas cepas de *E. coli* para replicación de los vectores de clonación y otras etapas en la construcción de los anticuerpos modificados de la presente invención.

Las células huésped o líneas celulares adecuadas para la expresión del anticuerpo de la invención son preferentemente células de mamífero tales como NS0, Sp2/0, CHO (por ejemplo, DG44), COS, una célula fibroblástica (por ejemplo, 3T3) y células de mieloma, y más preferentemente una célula CHO o una célula de mieloma. Pueden usarse células humanas, que así permitan que se modifique la molécula con modelos de glicosilación humanos. Como alternativa, pueden emplearse otras líneas celulares eucariotas. La selección de células huésped de mamífero adecuadas y los procedimientos para la transformación, cultivo, amplificación, exploración y producción de productos y purificación se conocen en la técnica. Véase, por ejemplo, Sambrook y col., citado anteriormente.

Las células bacterianas pueden confirmarse como útiles como células huésped adecuadas para la expresión de los anticuerpos o fragmentos de los mismos (tales como los Fab o los scFv recombinantes) de la presente invención (véase, por ejemplo, Pluckthun, A., *Immunol. Rev.*, 130:151-188 (1992)). Sin embargo, debido a la tendencia de las proteínas expresadas en las células bacterianas a estar en una forma no plegada o incorrectamente plegada o en una forma no glicosilada, cualquier fragmento recombinante producido en una célula bacteriana podría tener que explorarse para determinar la conservación de la capacidad de unión al antígeno. Si la molécula expresada por la célula bacteriana se produce en una forma correctamente plegada, esa célula bacteriana sería un huésped deseable. Por ejemplo, en el campo de la biotecnología, como células huésped, se conocen bien diversas cepas de *E. coli* usadas para la expresión. En este procedimiento también pueden emplearse diversas cepas de *B. subtilis*, *Streptomyces*, otros bacilos y similares.

Cuando se desee, las cepas de células de levadura, conocidas por los expertos en la materia, también se encuentran disponibles como células huésped, así como células de insecto, por ejemplo, de *Drosophila* y *Lepidoptera* y sistemas de expresión virales. Véase, por ejemplo Miller y col., *Genetic Engineering*, 8:277-298, Plenum Press (1986) y referencias citadas en su interior.

Los procedimientos generales mediante los cuales pueden construirse los vectores, los procedimientos de transfección necesarios para producir las células huésped de la invención y los procedimientos de cultivo necesarios para producir el anticuerpo de la presente invención a partir de tal célula huésped son técnicas todas convencionales. Típicamente, el procedimiento de cultivo de la presente invención es un procedimiento de cultivo aséptico, normalmente mediante cultivo de células en suspensión sin suero. Del mismo modo, una vez producidos, los anticuerpos de la invención pueden purificarse del contenido del cultivo celular de acuerdo con procedimientos convencionales de la técnica, incluyendo precipitación con sulfato de amonio, columnas de afinidad, cromatografía de columna, electroforesis en gel y similares. Tales técnicas se incluyen en la experiencia de la técnica y no limitan la presente invención. Por ejemplo, la preparación de anticuerpos se describe en los documentos WO 99/58679 y WO 96/16990.

Otro procedimiento más de expresión de los anticuerpos puede utilizar la expresión en un animal transgénico, tal como se describe en la Patente de Estados Unidos Nº 4.873.316. Este se refiere a un sistema de expresión que utiliza el promotor de caseína de animales que cuando se incorpora transgénicamente en un mamífero permite que la hembra produzca la proteína recombinante deseada en su leche.

En un aspecto adicional de la invención se proporciona un procedimiento para producir un antígeno de la invención cuyo procedimiento comprende la etapa de cultivar una célula huésped transformada o transfectada con un vector

que codifica la cadena ligera y/o pesada del anticuerpo de la invención y recuperar el anticuerpo así producido.

Las células huésped adecuadas para la clonación o expresión de vectores que codifican los anticuerpos de la invención son células procariotas, de levadura o eucariotas superiores. Las células procariotas adecuadas incluyen eubacterias, por ejemplo, enterobacteriáceas tales como *Escherichia*, por ejemplo, *E. coli* (por ejemplo, ATCC 31.446; 31.537; 27.325), *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, por ejemplo, *Salmonella typhimurium*, *Serratia*, por ejemplo, *Serratia marcescens* y *Shigella*, así como *Bacilli* tales como *B. subtilis* y *B. licheniformis* (véase DD 266 710), *Pseudomonas*, tal como *P. aeruginosa* y *Streptomyces*. De las células huésped de levaduras, también se contemplan *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Kluyveromyces* (por ejemplo, ATCC 16.045; 12.424; 24178; 56500), *Yarrowia* (EP402. 226), *Pichia pastoris* (documento EP183.070, véase también Peng y col J. Biotechnol. 108 (2004) 185-192), *Candida*, *Trichoderma reesia* (documento EP244.234), *Penicillin*, *Tolypocladium* y huéspedes de *Aspergillus* tales como *A. nidulans* y *A. niger*.

Sin embargo, aunque la invención contempla específicamente células huésped de procariotas y de levadura, típicamente, las células huésped de la presente invención son células de vertebrados. Las células huésped de vertebrados adecuadas incluyen células de mamíferos tales como COS-1 (ATCC N° CRL 1650) COS-7 (ATCC CRL 1651), la línea embrionaria de riñón humano 293, células renales de cría de hámster (BHK) (ATCC CRL 1632), BHK570 (ATCC N° CRL 10314), 293 (ATCC N° CRL 1573), células CHO de ovario de hámster chino (por ejemplo, CHO-K1, ATCC N° CCL 61, la línea celular CHO- DHFR tal como DG44 (véase Urlaub y col, (1986) Somatic Cell Mol. Genet.12, 555-556)), particularmente aquellas líneas de células CHO adaptadas para cultivos en suspensión, células de Sertoli de ratón, células renales de mono, células renales de mono verde africano (ATCC CRL-1587), células HeLa, células renales caninas (ATCC CCL 34), células pulmonares humanas (ATCC CCL 75), células Hep G2 y de mieloma o linfoma, por ejemplo, NS0 (véase el documento US 5.807.715), Sp2/0, Y0.

Por tanto, en una realización de la invención se proporciona una célula huésped transformada de manera estable que comprende un vector que codifica una cadena pesada y/o cadena ligera del anticuerpo terapéutico o fragmento de unión a antígeno del mismo como se describe en el presente documento. Típicamente dichas células huésped comprenden un primer vector que codifica la cadena ligera y un segundo vector que codifica dicha cadena pesada.

Las células huésped transformadas con los vectores que codifican los anticuerpos terapéuticos de la invención o fragmentos de unión a antígeno de los mismos pueden cultivarse mediante cualquier procedimiento conocido por los expertos en la materia. Las células huésped pueden cultivarse en matraces de centrifugación, frascos rotativos o sistemas de fibra hueca pero, para la producción a gran escala, se prefiere usar particularmente reactores de tanque agitados para cultivos en suspensión. Típicamente los tanques agitados están adaptados para la oxigenación usando, por ejemplo, rociadores, deflectores o impulsores de baja cizalla. Para columnas de burbujas y reactores aerotransportadores puede usarse oxigenación directa con burbujas de aire o de oxígeno que pueden usarse. Cuando las células huésped se cultivan en un medio de cultivo asérico se prefiere complementar el medio con un agente protector de células tal como Pluronic F-68 para ayudar a prevenir el daño celular como resultado del proceso de oxigenación. Dependiendo de las características de la célula huésped, pueden usarse microtransportadores como sustratos para el crecimiento para líneas celulares dependientes de anclaje o las células pueden adaptarse al cultivo en suspensión (que es lo típico). El cultivo de células huésped, particularmente células huésped de vertebrados, puede utilizar una diversidad de modos operativos tales como cultivo semicontinuo, procesamiento discontinuo repetido (véase Drapeau y col (1994) cytotechnology 15: 103-109), proceso discontinuo ampliado o perfusión. Aunque las células huésped de mamífero, transformadas de manera recombinante, pueden cultivarse en medios que contengan suero, tales como medios que comprenden suero fetal de ternero (SFT), se prefiere que tales células huésped se cultiven en medios aséricos sintéticos, tal como se describe en Keen y col (1995) cytotechnology 17:153-163, o en medios disponibles en el mercado, tales como ProCHO-CDM o UltraCHO™ (Cambrex NJ, USA) complementados, cuando sea necesario, con una fuente de energía, tal como glucosa y factores de crecimiento sintéticos, tales como insulina recombinante. El cultivo asérico de las células huésped puede requerir que estas células se adapten al crecimiento en condiciones aséricas. Una estrategia de adaptación es cultivar tales células huésped en suero que contenga medio y cambiar repetidamente el 80% del medio de cultivo por el medio asérico de tal manera que las células huésped aprendan a adaptarse a las condiciones aséricas (véase, por ejemplo Scharfenberg K. y col (1995) in Animal Cell technology: Developments towards the 21st century (Beuvery E.C. y col eds), págs. 619-623, Kluwer Academic publishers).

Los anticuerpos de la invención, secretados en el medio, pueden recuperarse y purificarse del medio usando una diversidad de técnicas para proporcionar un grado de purificación adecuado para el uso que se pretende. Por ejemplo, el uso de los anticuerpos terapéuticos de la invención para el tratamiento de pacientes humanos, exige típicamente una pureza de al menos 95%, más típicamente una pureza del 98% o del 99 %, en comparación con el medio de cultivo que comprende los anticuerpos terapéuticos. En el primer caso, los residuos celulares del medio de cultivo se retiran típicamente usando centrifugación seguido de una etapa de aclarado del sobrenadante usando, por ejemplo, microfiltración, ultrafiltración y/o filtración exhaustiva. Se dispone de una diversidad de técnicas distintas, tales como diálisis y electroforesis en gel y técnicas cromatográficas tales como cromatografía con hidroxipatita (HA), de afinidad (que opcionalmente implica un sistema de marcaje por afinidad tal como polihistidina) y/o cromatografía de interacción hidrófoba (CIH, véase el documento US 5.429.746). En una realización, los anticuerpos de la invención, después de diversas etapas de aclarado, se capturan usando cromatografía de afinidad con proteína A o G seguido de etapas posteriores de cromatografía tal como cromatografía de intercambio iónico y/o con

HA, cromatografía de intercambio aniónico o catiónico, de exclusión por tamaño y precipitación con sulfato de amonio. Típicamente, también se emplean diversas etapas de retirada de virus (por ejemplo, nanofiltración usando, por ejemplo, un filtro DV-20). Después de estas diversas etapas, se proporciona una preparación purificada (típicamente monoclonal) que comprende al menos 75 mg/ml o más, por ejemplo, 100 mg/ml o más del anticuerpo de la invención o fragmento de unión a antígeno del mismo y por lo tanto forma una realización de la invención. De manera adecuada, dichas preparaciones son sustancialmente libres de formas agregadas de los anticuerpos de la invención.

De acuerdo con la presente invención se proporciona un procedimiento para producir un anticuerpo anti-NOGO de la presente invención que se une específicamente a, y neutraliza, la actividad de la NOGO-A humana cuyo procedimiento comprende las etapas de:

- (a) proporcionar un primer vector que codifique una cadena pesada del anticuerpo;
- (b) proporcionar un segundo vector que codifique la cadena ligera del anticuerpo;
- (c) transformar una célula huésped de mamífero (por ejemplo, CHO) con dicho primer y segundo vector;
- (d) cultivar la célula huésped de la etapa (c) en condiciones que conduzcan a la secreción del anticuerpo a partir de dicha célula huésped en dicho medio de cultivo;
- (e) recuperar el anticuerpo secretado de la etapa (d).

Después, una vez expresado el anticuerpo, mediante el procedimiento deseado, se examina para determinar la actividad *in vitro* usando un ensayo apropiado. Actualmente, para evaluar la unión cualitativa y cuantitativa del anticuerpo a NOGO, se emplean formatos de ensayo ELISA convencionales. Adicionalmente, también pueden usarse otros ensayos *in vitro* para verificar la eficacia neutralizante antes de realizar estudios clínicos humanos posteriores para evaluar la persistencia del anticuerpo en el organismo pese a los mecanismos de eliminación usuales.

Otras modificaciones para los anticuerpos de la presente invención incluyen variantes de glicosilación de los anticuerpos de la invención. Se sabe que, la glicosilación de los anticuerpos en posiciones conservadas en sus regiones constantes tiene un profundo efecto sobre la función de los anticuerpos, particularmente sobre el funcionamiento efector, tal y como los descritos anteriormente, véase por ejemplo, Boyd y col (1996), Mol. Immunol. 32, 1311-1318. Se contemplan variantes de glicosilación de los anticuerpos terapéuticos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la presente invención en el que se añade, se sustituye, se selecciona o se modifica uno o más restos de hidratos de carbono. La introducción de un motivo asparagina-X-serina o asparagina-X-treonina crea un posible sitio para la unión enzimática de restos de hidratos de carbono y puede por lo tanto usarse para manipular la glicosilación de un anticuerpo. En Raju y col (2001) Biochemistry 40, 8868-8876 la sialilación terminal de una inmunoadhesina TNFR-IgG se aumentó mediante un proceso de regalactosilación y/o resialización usando beta-1,4-galactosiltransferasa y/o alfa, 2,3 sialiltransferasa. Se cree que el aumento de la sialilación terminal aumenta la semivida de la inmunoglobulina. Los anticuerpos, al igual que la mayoría de las glicoproteínas, se producen típicamente en la naturaleza como una mezcla de glicoformas. Esta mezcla es particularmente evidente cuando los anticuerpos se producen en células eucarióticas, particularmente células de mamíferos. Se han desarrollado diversos procedimientos para fabricar glicoformas definidas, véase Zhang y col, Science (2004), 303, 371, Sears y col, Science, (2001) 291, 2344, Wacker y col (2002) Science, 298 1790, Davis y col (2002) Chem. Rev. 102, 579, Hang y col (2001) Acc. Chem. Res 34, 727. Por tanto la invención se refiere a una pluralidad de anticuerpos (típicamente monoclonales) terapéuticos (que pueden ser del isotipo IgG, por ejemplo, IgG1), como se describe en el presente documento, que comprende un número definido (por ejemplo 7 o menos, por ejemplo 5 o menos, tal como dos o una) de glicoforma (o glicoformas) de dichos anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos.

Los agentes terapéuticos de la presente invención pueden administrarse como un profiláctico o después de un suceso de ictus / conjunto de síntomas clínicos, o según se requiera de otro modo. La dosis y la duración del tratamiento se refiere a la duración relativa, en la circulación humana, de las moléculas de la presente invención y dependiendo de la afección que vaya a tratarse y de la salud general del paciente un experto en la materia puede ajustarlas. Se contempla que, para conseguir una eficacia terapéutica máxima, puede ser necesaria la dosificación repetida (por ejemplo una vez por semana o una vez cada dos semanas) durante un período de tiempo prolongado (por ejemplo, de cuatro a seis meses).

El modo de administración del agente terapéutico de la invención puede ser cualquier vía adecuada que proporcione el agente al huésped. Los anticuerpos, y las composiciones farmacéuticas de la invención, son particularmente útiles para la administración parenteral, es decir, por vía subcutánea (s.c.), por vía intratecal, por vía intraperitoneal (i.p.), por vía intramuscular (i.m.), por vía intravenosa (i.v.), o por vía intranasal (i.n.).

Los agentes terapéuticos de la invención pueden prepararse como composiciones farmacéuticas que contengan una cantidad eficaz del anticuerpo de la invención como un principio activo en un transportador farmacéuticamente aceptable. En el agente profiláctico de la invención, se prefiere una suspensión o solución acuosa que contenga el anticuerpo modificado por ingeniería genética, preferentemente tamponado a pH fisiológico, en una forma lista para inyección. Las composiciones para administración parenteral comprenderán normalmente una solución del anticuerpo de la invención o un cóctel del mismo disuelto en un transportador farmacéuticamente aceptable,

preferentemente un transportador acuoso. Puede emplearse una diversidad de transportadores acuosos, por ejemplo, solución salina al 0,9%, glicina al 0,3%, y similar. Esas soluciones son estériles y generalmente carecen de materia particulada. Esas soluciones pueden esterilizarse mediante técnicas convencionales de esterilización bien conocidas (por ejemplo, filtración). Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables, según se requiera, para aproximarse a las condiciones fisiológicas, tales como agentes ajustadores del pH y agentes tamponantes, etc. La concentración del anticuerpo de la invención en tal formulación farmacéutica puede variar ampliamente, es decir, de menos de aproximadamente 0,5%, normalmente, o al menos aproximadamente, del 1% a como mucho el 15 o el 20% en peso y se seleccionará principalmente en base a volúmenes de fluido, viscosidades, etc., de acuerdo con el modo de administración particular seleccionado.

Por tanto, para inyección intramuscular, podría prepararse una composición farmacéutica de la invención que contuviese 1 ml de agua tamponada estéril y entre aproximadamente de 1 ng a aproximadamente 100 mg, por ejemplo, de aproximadamente 50 ng a aproximadamente 30 mg o más preferentemente, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 25 mg, de un anticuerpo de la invención. De manera similar, para infusión intravenosa, podría constituirse una composición farmacéutica de la invención que contuviese de aproximadamente 250 ml de solución de Ringer estéril y aproximadamente de 1 a aproximadamente 30 y preferentemente de 5 mg a aproximadamente 25 mg de un anticuerpo de la invención modificado por ingeniería genética por ml de solución de Ringer. Los procedimientos reales para preparar composiciones que puedan administrarse por vía parenteral se conocen bien o serán obvios para los expertos en la materia y se describen con más detalle, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Science, 15^a ed. Mack Publishing Company, Easton, Pensilvania. Para la preparación de formulaciones de anticuerpos de la invención que puedan administrarse por vía intravenosa véase Lasmar U y Parkins D "The formulation of Biopharmaceutical products", Pharma. Sci.Tech.today, págs. 129-137, Vol. 3 (3 de abril del 2000), Wang, W "Instability, stabilisation and formulation of liquid protein pharmaceuticals", Int. J. Pharm 185 (1999) 129-188, Stability of Protein Pharmaceuticals Part A and B ed Ahern T.J., Manning M.C., Nueva York, NY: Plenum Press (1992), Akers, M.J. "Excipient-Drug interactions in Parenteral Formulations", J. Pharm Sci 91 (2002) 2283-2300, Imamura, K y col., "Effects of types of sugar on stabilization of Protein in the dried state", J Pharm Sci 92 (2003) 266-274, Izutsu, Kojima, S. "Excipient crystallinity and its protein-structure-stabilizing effect during freeze-drying", J Pharm. Pharmacol, 54 (2002) 1033-1039, Johnson, R, "Mannitol-sucrose mixtures-versatile formulations for protein lyophilization", J. Pharm. Sci, 91 (2002) 914-922. Ha, E Wang W, Wang Y.j. "Peroxide formation in polysorbate 80 and protein stability", J. Pharm Sci, 91, 2252-2264, (2002).

Se prefiere que, cuando el agente terapéutico de la invención, esté en una preparación farmacéutica, se presente en formas de dosificación unitaria. Los expertos en la técnica determinarán fácilmente las dosis apropiadas, terapéuticamente eficaces. Para tratar eficazmente el ictus y otras enfermedades neurológicas en un ser humano, se contempla administrar, una dosis dentro del intervalo de 700 a 3500 mg por 70 kg de peso corporal de un anticuerpo de la presente invención, por vía parenteral, preferentemente s.c, i.v. o i.m. (intramuscularmente). Dicha dosis puede, si fuera necesario, repetirse a intervalos de tiempo apropiados seleccionados según sea apropiado por un médico.

Los anticuerpos descritos en el presente documento pueden liofilizarse para su conservación y reconstituirse en un transportador adecuado antes de su uso. Se ha demostrado que esta técnica es eficaz con inmunoglobulinas convencionales y pueden emplearse técnicas de liofilización y reconstitución conocidas en la materia.

Los anticuerpos de la invención también pueden usarse en procedimientos de tratamiento para disminuir o detener el avance y/o la aparición de la enfermedad de Alzheimer, además de (o como una alternativa a) tratar la enfermedad establecida en un paciente humano.

Las enfermedades o trastornos neurológicos, como se usa anteriormente en el presente documento, incluyen, pero sin limitación, lesión cerebral traumática, lesión de la médula espinal, demencias fronto-temporales (tauopatías), neuropatía periférica, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington y, en particular, enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple o esclerosis lateral amiotrófica (ELA).

Los anticuerpos de la invención también puede usarse en un procedimiento para promover la proliferación axonal que comprende la etapa de poner en contacto un axón humano con un anticuerpo anti-NOGO de la presente invención. Este procedimiento puede realizarse *in vitro* o *in vivo*, preferentemente los procedimientos se realizan *in vivo*.

Los anticuerpos de la invención también pueden usarse en un procedimiento para modular la producción de un péptido amiloidogénico que comprende poner en contacto una célula que está expresando el precursor a partir del cual deriva el péptido amiloidogénico y un polipéptido de NOGO (por ejemplo, NOGO-A humana) con un anticuerpo anti-NOGO de la presente invención. En realizaciones típicas, el precursor es la PPA (proteína precursora amiloidea). En realizaciones típicas adicionales, el péptido amiloidogénico es A β , más preferentemente A β 40, A β 42 o una combinación de ambos.

Como se usa en el presente documento, la expresión "recuperación funcional", se refiere a una mejoría motora y/o sensorial y/o conductual en un sujeto después de, por ejemplo, un suceso isquémico o una lesión isquémica o

conjunto de síntomas clínicos. La recuperación funcional en seres humanos puede evaluarse mediante instrumentos diseñados para medir funciones neurológicas elementales tales como fuerza, sensación y coordinación motora, funciones cognitivas tales memoria, lenguaje y capacidad de seguir instrucciones y capacidades funcionales tales como actividades básicas de la vida diaria o actividades con equipos. La recuperación de la función neurológica elemental puede medirse con instrumentos tales como la escala del ictus del NIH (NIHSS), la recuperación de la función cognitiva puede medirse con ensayos neuropsicológicos tales como el ensayo de designación de Boston, ensayos de trazo, y ensayo de aprendizaje verbal de California y las actividades de la vida diaria pueden medirse con instrumentos tales como la escala de ADCS/ADL (estudios clínicos de enfermedad de Alzheimer/actividades de vida diaria) o la escala de actividades de la vida diaria de Bristol, todos estos ensayos y escalas son conocidos en la técnica.

Los siguientes ejemplos ilustran, pero no limitan la invención.

Ejemplo 1, Construcción y expresión de anticuerpos anti-NOGO humanizados

Se prepararon *de novo* construcciones humanizadas de V_H y V_L acumulando oligonucleótidos solapantes que incluían sitios de restricción para la clonación en vectores de expresión de mamíferos Rld y Rin (o cualquier otro vector de expresión adecuado para la expresión de proteínas en células de mamíferos) así como una secuencia señal humana. Se introdujeron los sitios de restricción Hind III y Spe I para formar el dominio de V_H que contenía la secuencia señal CAMPATH-1H para la clonación en Rld que contenía la región constante $\gamma 1$ humana mutada para impedir la actividad ADCC y CDC (L235A y G237A – sistema de numeración según el índice de EU). Se introdujeron los sitios de restricción Hind III y BsiWI para formar el dominio de V_L que contenía la secuencia señal CAMPATH-1H para la clonación en Rin que contenía la región constante kappa humana.

Secuencia señal CAMPATH-1H: MGWSCILFLVATATGVHS (SEC ID N°: 31)

Se produjeron plásmidos que codificaban las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada de la IgG humana, en la que las CDR eran las descritas en la Tabla 2. A partir de aquellos plásmidos previos existentes se produjeron plásmidos que codificaban las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada de la IgG humana, en la que las CDR eran las descritas en la Tabla 3, introduciendo mutaciones puntuales sencillas, G95M (numeración de Kabat), usando el kit QuickChange (Stratagene).

La siguiente tabla desvela que secuencias de proteína de cadena pesada de longitud completa se realizaron en los vectores plasmídicos y que secuencias se emparejaron, en cuanto a que la única diferencia en las secuencias de aminoácidos de las secuencias emparejadas de la cadena pesada de longitud completa (FL) era una sustitución en la posición G95M (numeración de Kabat) dentro de la CDR H3 de la región variable:

Tabla 8

CDR como se definen en la Tabla 2	Sustitución en G95M (para formar la CDR H3 de la Tabla 3)
H1 FL (SEC ID N° 35)	No realizada
H6 FL (SEC ID N° 15)	H26 FL (SEC ID N° 53)
H16 FL (SEC ID N° 16)	H27 FL (SEC ID N° 54)
H20 FL (SEC ID N° 42)	H28 FL (SEC ID N° 55)

Después, los plásmidos que codificaban las cadenas pesadas se co-transfectaron dentro de células CHO (para más detalles véase el Ejemplo 2) con una de las siguientes secuencias de la cadena ligera de longitud completa: L11 FL (SEC ID N° 36), L13 FL (SEC ID N° 17) o L16 FL (SEC ID N° 18).

En paralelo, se produjo una quimera, denominada HcLc, (que es la quimera de 2A10 (SEC ID N° 9 y 10 - las cadenas de longitud completa que comprende las regiones constantes de la IgG humana y la VL (SEC ID N° 8) y VH (SEC ID N° 7) murina de 2A10).

Ejemplos 2: Expresión de anticuerpos en células CHO

Los plásmidos Rld y Rin (u otros vectores adecuados para su uso en células de mamíferos) que codificaban respectivamente las cadenas pesada y ligera se co-transfectaron transitoriamente dentro de células CHO y se expresaron a pequeña escala o a gran escala para producir anticuerpos. Como alternativa, los mismos plásmidos se co-transfectaron dentro de células CHO- DHFR por electroporación y, usando un medio sin nucleósidos, se seleccionó una población policlonal estable de células que expresaban el anticuerpo apropiado (Rld contenía el gen de DHFR, Rin contenía un marcador de selección de neomicina). En algunos ensayos, los anticuerpos se evaluaron directamente a partir del sobrenadante de cultivo tisular. En otros ensayos, el anticuerpo recombinante se recuperó y se purificó por cromatografía de afinidad en sefarsa con proteína A.

Ejemplo 3, el anticuerpo anti-NOGO humanizado se une a NOGO

La NOGO-A56 humana marcada con GST (véase el Ejemplo 5) se revistió a 0,05-1 µg/ml en PBS sobre placas Immunosorp Nunc (100 µl por pocillo) a 4°C durante una noche. Los pocillos se aclararon una vez con TBS + Tween al 0,05% (TBST) y después, para bloquear los sitios de unión no específicos, se incubaron con BSA al 2% en TBST a temperatura ambiente durante 1 hora. Los anticuerpos se diluyeron en TBST + BSA al 2% contra 10 µg/ml y se realizaron diluciones 1/2 a partir de esto. Se añadieron anticuerpos a los pocillos por duplicado y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Los pocillos se lavaron tres veces con TBST, después se incubaron con anti-kappa humano conjugado con peroxidasa (1:2000) durante 1 hora. Los pocillos se lavaron tres veces con TBST y después se incubaron con 100 µl de sustrato de peroxidasa OPD (Sigma) por pocillo durante 10 minutos. La reacción de color se detuvo mediante la adición de 25 µl de H₂SO₄ concentrado. Se midió la densidad óptica a 490 nm usando un lector de placa. Los valores de fondo se leyeron de los pocillos sin sustraer ningún anticuerpo.

Las Figuras 1-4 ilustran la unión dependiente de la dosis de los anticuerpos humanizados en comparación con la quimera (denominada HcLc que es la quimera de 2A10 (que comprenden las regiones constantes de la IgG humana y la VL (SEC ID Nº 8) y VH (SEC ID Nº 7) murina de 2A10) a la NOGO-A56 humana marcada con GST (véase el Ejemplo 5 para más detalles) en un ensayo ELISA. El eje Y muestra la densidad óptica (DO) medida a 490 nm, una medida cuantitativa del anticuerpo capturado en los pocillos. El eje X muestra la concentración del anticuerpo usado (mcg/ml) por pocillo a cada punto de datos.

El material de anticuerpo usado en las Figuras 1-4 es anticuerpo purificado generado por el sistema de expresión policlonal o transfecciones transitorias a gran escala. En estos casos, los niveles de IgG se cuantificaron por ELISA y densidad óptica.

Los resultados de los experimentos mostrados en las Figuras 1-4 muestran que la inclusión de la mutación en G95M mejora el rendimiento del anticuerpo. La única excepción es H27L16 mostrado en la Figura 3 y 4 cuyo rendimiento es muy malo. Se cree que estos datos se obtienen por un problema técnico no identificado con el ensayo de H27L16, ya que, al contrario, en otros ensayos, H27L16 ha dando un buen rendimiento (en ensayos ELISA mostrados en las Figuras 1 y 2 y en ensayos Biacore (Tablas 9 y 10)). También se ha demostrado que H27L16 funciona muy bien en experimentos posteriores (véanse las Figuras 9 y 10).

Ejemplo 4, Protocolo de cuantificación de los anticuerpos

Se revistieron placas Nunc Immunosorp con un anticuerpo de captura anti-cadena de IgG humana de cabra (Sigma Nº I3382) a 2 µg/ml en tampón bicarbonato (Sigma Nº C3041) y se incubaron durante una noche a 4°C. Las placas se lavaron dos veces con TBS que contenía Tween 20 al 0,05% (TBST) y se bloquearon con 200 µl de TBST que contenía BSA al 2% (o del 1-3%) (tampón de bloqueo) durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavaron dos veces con TBST. Los sobrenadantes del cultivo tisular que contenían el anticuerpo se titularon a través de la placa en etapas de dilución 2 veces en tampón de bloqueo y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Las placas se lavaron tres veces con TBST. El anticuerpo H23 conjugado con HRP (anti-cadena kappa humana de cabra, Sigma Nº A7164) se diluyó a 1:2.000 en TBST y a cada pocillo se añadieron 100 µl. Las placas se incubaron durante 1 h a temperatura ambiente. Las placas se lavaron tres veces con TBST y se desarrollaron con 100 µl de sustrato OPD-Fast (Sigma Nº P9187). Se dejó que el color se desarrollase durante un tiempo de 5-10 minutos después del cual se detuvo el ELISA con 25 µl de H₂SO₄ 3M. En un lector de placa se leyó la absorbancia a 490 nm y se determinó la concentración de anticuerpo por referencia a una curva patrón.

Ejemplo 5. Producción del fragmento NOGO-A (NOGO-A56, SEC ID Nº: 32)

Se creó una secuencia de ADNc que codificaba un polipéptido que comprendía los aminoácidos 586-785 y un marcador de GST (SEC ID Nº: 32) de la NOGO-A humana clonando un ADNc que codificaba los aminoácidos 586-785 de la NOGO-A humana en los sitios BamHI-XhoI de pGEX-6P1 para generar una proteína de fusión marcada con GST denominada NOGO-A56- humana-marcada con GST. El plásmido se expresó en células BL21 en medio 2XTY con ampicilina 100 µg/ml tras inducción con IPTG a 0,5 mM a 37 °C durante 3 horas. Los sedimentos celulares se lisaron por tratamiento con ultrasonido y la proteína de fusión se purificó usando glutatión-sefarosa (Amersham Pharmacia) siguiendo las instrucciones del fabricante. La proteína purificada se eluyó usando glutatión reducido y se dializó exhaustivamente frente a PBS, se cuantificó usando patrones de BSA y un ensayo de proteína basado en Coomassie de BioRad y después se conservó en alícuotas a -80°C.

Ejemplo 6. Análisis por Biacore de anticuerpos monoclonales anti NOGO humanizados

La cinética de unión del anticuerpo monoclonal (mAb) anti-NOGO, que expresaba de manera recombinante la NOGO-A humana marcada con GST, se analizó usando el biodetector Biacore3000 o Biacore T100. La microplaca con hNOGO-A se preparó de la siguiente manera:

Procedimiento

La NOGO-A56 humana marcada con GST se inmovilizó en microplaca CM5 por acoplamiento con amina primaria usando el programa Wizard de Biacore diseñado niveles de inmovilización diana. La superficie detectora de CM5 se activó haciendo pasar una solución de N-hidroxi-succinimida (NHS) 50 mM y N-etil-N'-dimetilaminopropil carbonida (EDC) 200 mM. Después se hizo pasar la NOGO-A56 humana marcada con GST en tampón de acetato de sodio, pH 5,0 o pH 4,5, sobre la microplaca y se inmovilizó. Después de completar la inmovilización cualquiera de los ésteres aún activados se bloquearon mediante una inyección de clorhidrato de etanolamina 1M, pH 8,5.

Los mAb anti-NOGO se diluyeron de manera descendente en HBS-EP (HEPES 10 mM, pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM y tensioactivo P-20 al 0,005%) para el BiAcCore 3000 o en HBS-EP+ (HEPES 10 mM, pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM y tensioactivo P-20 al 0,05%) en el caso del BiAcCore T100 y se realizaron estudios de unión a intervalos de concentraciones definidas del anticuerpo. Todos los procesos se relacionaron frente a una superficie detectora en blanco (una que se había activado y bloqueado como se describe al principio pero a la que no se había añadido ligando). El análisis de unión se realizó usando el programa informático de análisis cinético BIAevaluation versión 4,1 para el programa informático de análisis BiAcCore 3000 y T100 versión 1,0. Los análisis Biacore de otros anticuerpos de la invención siguieron esencialmente el mismo protocolo que el descrito en el presente documento. A menos que se indique otra cosa, los experimentos Biacore se realizaron a 25°C.

En la siguiente sección de resultados cada tabla de datos representa los resultados obtenidos a partir de un experimento individual.

Resultados - Tabla 9

Anticuerpo	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (pM)
HcLc	3,19E6	2,49E-3	779
H27L13	6,2E6	1,8E-3	291
H26L13	3,23E6	3,11 E-3	963
H28L13	7,26E6	3,3E-3	454
H27L16	6,24E6	1,21 E-3	194
H27L16	7,25E6	2,14E-3	296

Resultados - Tabla 10

Anticuerpo	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
HcLc (25°C)	2,66E6	3,13E-3	1,18
HcLc (37°C)	5,08E6	7,74E-3	1,46
H16L16 (25°C)	3,43E6	3,72E-3	1,08
H16L16 (37°C)	5,31 E6	6,16E-3	1,16
H20L16 (25°C)	4,69E6	5,42E-3	1,16
H20L16 (37°C)	7,17E6	1,08e-3	1,51
H27L16 (25°C)	3,94E6	1,50E-3	0,380
H27L16 (37°C)	7,18E6	3,06E-3	0,426
H27L13 (25°C)	3,50E6	2,13E-3	0,606
H27L13 (37°C)	6,58E6	4,22E-3	0,641
H28L16 (25°C)	4,33E6	2,64E-3	0,610
H28L16 (37°C)	7,73E6	5,24E-3	0,678
H28L13 (25°C)	4,16E6	3,89E-3	0,936
H28L13 (37°C)	7,43E6	7,59E-3	1,02

Resultados - Tabla 11

Anticuerpos	ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (nM)
HcLc	3,17E6	2,33E-3	0,74
H26L13	3,45E6	2,88E-3	0,87
H27L13	6,58E6	1,83E-3	0,28

H28L13	6,97E6	3,17E-3	0,45
H28L16	6,89E6	1,95E-3	0,28

Ejemplo 7: Análisis *BiaCore* de anticuerpos monoclonales anti NOGO humanizados usando clasificación de constante de disociación

La microplaca de NOGO-A56 humana marcada con GST se preparó del mismo modo que para el análisis cinético. Los sobrenadantes celulares se tomaron directamente a partir de transfecciones transitorias de células CHO-K1. Estas se hicieron pasar directamente sobre la superficie detectora y se midió la interacción. Se usó un sobrenadante celular transfectado simulado para una doble relación para retirar cualquier artefacto debido al medio de cultivo tisular. Todos los procesos se relacionaron frente a una superficie detectora en blanco (una que se había activado y bloqueado como se ha descrito al principio pero a la que no se había añadido ligando). El análisis de unión se realizó usando el programa informático de análisis cinético BIAevaluation versión 4.1.

Ejemplo 8: Mapeo Peptídico

Se obtuvieron 47 péptidos solapantes que abarcaban la parte de la NOGO-A56 del dominio de la NOGO-A56 humana marcada con GST (SEC ID N° 32) (de Mimotope™). Los péptidos tenían una longitud de 16 aminoácidos con un aminoácido en la posición solapando con el péptido adyacente (cada péptido comprendía adicionalmente una secuencia SGSG marcada con biotina en el extremo N) con la excepción del primer péptido que tenía un marcador de GSG-biotina en el extremo C. Los péptidos se usaron para el mapeo epitópico del sitio de unión de 2A10 y H28L16.

Procedimiento para el mapeo epitópico:

Se revistieron con estreptavidina a 5 µg/ml en agua estéril placas Nunc immunosorp (100 µl por pocillo) a 37°C durante una noche. Las placas se aclararon 3 veces con PBS que contenía Tween a 0,05% (PBST) después se bloquearon con BSA al 3% en PBST a 4°C durante una noche. Las placas se lavaron 3 veces con PBST. Después se añadieron los péptidos a los pocillos a una concentración de aproximadamente 10 µg/ml (diluido en BSA al 3% en PBST) y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Las placas se lavaron 3 veces con PBST, después se incubaron durante 1 hora con anticuerpos anti-NOGO diluidos a 5 µg/ml en BSA al 3% en PBST. Las placas se lavaron 3 veces con PBST, después se incubaron con anti-kappa humana o anti-kappa de ratón conjugado con peroxidasa (1:1000, diluido en BSA al 3% en PBST) durante 1 hora. Las placas se lavaron 3 veces con PBST y después se incubaron con 100 µl de sustrato de peroxidasa OPD (Sigma) por pocillo durante 10 minutos. La reacción del color se detuvo por la adición de 50 µl de H₂SO₄ 3 molar. Usando un lector de placa, se midió la absorbancia a 490 nm.

Los datos indicaron que 2A10 y H28L16 se unían a los péptidos 6 y 7 cuya parte específica NOGO se proporciona en la SEC ID N° 73 y SEC ID N° 74 respectivamente, ambas de las cuales contienen la secuencia VLPDIVMEAPLN. Estos resultados indican que VLPDIVMEAPLN (SEC ID N° 60) contiene el epítipo de unión de 2A10 y H28L16.

Ejemplo 9: Comparación de HcLc y HcLc que contiene la mutación G95M de la CDR H3

Se construyó una variante modificada de HcLc a partir de plásmidos de expresión existentes introduciendo una mutación puntual sencilla, G95M (numeración de Kabat), usando el kit QuikChange (Stratagene). En la SEC ID N° 59 se proporciona la secuencia de proteína del dominio variable Hc de la cadena pesada (G95M).

Hc (G95M) Lc se expresó en células CHO como se ha descrito anteriormente. El anticuerpo se cuantificó como se describe en el Ejemplo 4. Las Figuras 5 y 6 muestran una comparativa de la actividad de unión de Hc (G95M) Lc y HcLc determinada usando un ELISA de unión a NOGO-A humana en el que la NOGO se revistió sobre placas Nunc immunosorp a 0,05 (Figura 5) y 1 µg/ml (Figura 6). La siguiente Tabla 12 muestra una comparativa de las afinidades de unión de Hc (G95M) Lc y HcLc.

Tabla 12, constante de disociación medida por clasificación Biacore en base a un experimento

Anticuerpo	Secuencia ID de la región variable de cadena pesada	constante de disociación kd (1/s)
H6L13	11	1,38E-2
H6 (G95M) L13	47	4,31E-3
HcLc	7	2,66E-3
Hc (G95M) Lc	59	6,14E-4

Los datos demuestran que la sustitución de G95M dentro de la CDR H3 no solamente aumenta la actividad de unión de los anticuerpos humanizados (H6L13), sino también la del anticuerpo donante murino 2A10 (HcLc).

Ejemplo 10: Construcción y ensayo de anticuerpos NOGO que contienen sustituciones en la CDR H3

Se creó un panel de 90 regiones variables de cadena ligera mediante mutaciones puntuales sencillas en los restos contenidos en la CDR H3, o en la leucina precedente. Específicamente, se prepararon vectores que codificaban una cadena pesada (en base a H6FL, SEC ID N° 15) que codificaban las regiones variables de la cadena pesada en la que se sustituyó cada resto aminoacídico CDR H3 y la leucina precedente (usando el kit QuikChange (Stratagene)) con todos los aminoácidos de origen natural restantes, excluyendo la cisteína, y se expresaron junto con una cadena ligera (L13FL, SEC ID N° 17) para dar 90 anticuerpos diferentes. Estos anticuerpos se sometieron a ensayo con respecto a la unión a NOGO en experimentos ELISA y Biacore.

Las Figuras 7 y 8 muestran una comparativa de la actividad de unión de las variantes de H6FL en comparación con H6FL L13FL. Las Tablas 13 y 14 muestran una comparativa de la cinética de disociación, medida por Biacore – solo se muestran los resultados de aquellos anticuerpos que tuvieron una constante de disociación medible en el ensayo Biacore y que tuvieron una actividad de unión comparable con H6L13 en ELISA.

Tabla 13

Anticuerpo parental	CDR3 VH	kd (1/s)
H6L13	MQGY	4,85E-03
HcLc	GQGY	5,58E-03
H6L13	GQNY	9,66E-03
H6L13	GQLY	1,32E-02
H6L13	IQGY	1,72E-02
H6L13	RQGY	1,75E-02
H6L13	GQSY	1,86E-02
H6L13	GQGY	1,98E-02
H6L13	GSGY	2,07E-02
H6L13	GDGY	2,12E-02
H6L13	GQGW	2,16E-02
H6L13	GIGY	2,57E-02
H6L13	GQYY	3,28E-02
H6L13	GQFY	3,35E-02
H6L13	WQGY	1,98E-02
H6L13	GAGY	3,15E-02
H6L13	GLGY	1,90E-02
H6L13	GVGY	1,78E-02
H6L13	GQWY	1,77E-02

Conclusiones

Los resultados indican que los anticuerpos que conservan las propiedades de unión del 2A10 murino, y el anticuerpo H6L13 que contiene GQGY, son los que contienen las CDR H3 siguientes: RQGY, IQGY, MQGY, GDGY, GIGY, GSGY, GQNY, GQYY, GQSY, GQLY, GQFY, GQGW, WQGY, GAGY, GLGY, GVGY, GQWY.

Ejemplo 11, Comparativa de mab que contiene GQGY (H20L16) con los mab de la variante G95M (H27L16 y H28L13 y H28L16)

Los anticuerpos indicados en la Tabla 14 se fabricaron como se ha descrito anteriormente.

Tabla 14 – Anticuerpos anti-NOGO-A 2A10 humanizados que proporcionan el número total de retromutaciones para el anticuerpo completo (2 x cadena pesada + 2 x cadena ligera).

Anticuerpo	Número total de retromutaciones por anticuerpo/tetramero completo
H20L16	22
H28L16	22
H28L13	16
H27L16	32

Características de unión in vitro

En un intento de clasificar los anticuerpos, se investigaron sus propiedades de unión en una serie de ensayos que incluían ELISA, ELISA de formato inverso, ELISA competitivo, Biacore y citometría de flujo.

11.1 Unión a NOGO-A humana recombinante en ELISA

Se investigó la capacidad de los anticuerpos para unirse a la NOGO-A humana recombinante (NOGO-A56 humana marcada con GST) mediante diversos ensayos relacionados con ELISA (realizados en un protocolo relacionado, aunque ligeramente diferente, como el descrito en el Ejemplo 3). En el primer ensayo, la placa se revistió directamente con la NOGO-A recombinante a diversas concentraciones de antígeno diferentes. Los resultados del ensayo ELISA de unión directo cuando el antígeno se carga a 1 mcg/ml o 0,05 mcg/ml se muestran en la Figura 9A y Figura 9B respectivamente. Los datos confirman que todos los anticuerpos muestran actividades de unión comparables a las de la NOGO-A humana recombinante cuando se comparan con la forma quimérica del anticuerpo parental (HcLc). A concentraciones de revestimiento de antígeno más altas, todos los anticuerpos producen un valor de CE50 similar. Por otro lado, a una concentración de revestimiento de antígeno inferior el ensayo fue capaz de discriminar entre los anticuerpos. Aunque no se obtuvieron curvas de saturación, un análisis de tendencias sobre las líneas reveló el siguiente orden de clasificación: H27L16 > H28L16, H28L13, H20L16.

En un experimento paralelo, se invirtió el formato del ensayo. En este formato, el anticuerpo se capturó sobre la placa y la unión de la NOGO-A humana recombinante (NOGO-A-56 humana-GST) se detectó usando el marcador de GST. Los resultados de este ELISA en formato inverso se muestran en la Figura 10. Los datos confirman que todos los anticuerpos muestran una actividad de unión comparable con la de la NOGO-A humana recombinante cuando se comparan con la forma quimérica del anticuerpo parental (HcLc). Este formato de unión ELISA no distingue entre los anticuerpos.

11.2 ELISA competitivo

Se evaluó la capacidad de los anticuerpos para competir directamente con el anticuerpo parental para el mismo epítipo sobre la NOGO-A humana usando un ensayo ELISA competitivo. Las placas se revistieron con NOGO-A humana recombinante (NOGO-A56 humana-GST). El anticuerpo parental 2A10 y los anticuerpos humanizados se mezclaron previamente antes de añadirse a las placas. La unión de 2A10 se cuantificó usando un anti-IgG de ratón conjugado con HRP (Dakocytomation, N° P0260). Los resultados mostrados en la Figura 11 confirman que los cuatro anticuerpos pueden competir con 2A10. Esto sugiere que los anticuerpos humanizados y el anticuerpo parental reconocen un epítipo solapante sobre la NOGO-A humana. Adicionalmente, la actividad de los anticuerpos humanizados es comparable o mayor a la de la quimera HcLc. Los resultados indican que H27L16, H28L16 y H28L13 son más fuertes que H20L16.

11.3 Mediciones de afinidad por Biacore

Se usó Biacore para determinar afinidades y clasificar anticuerpos usando dos metodologías diferentes. En la primera estrategia, la NOGO-A recombinante se acopló a la superficie de la microplaca y se hizo pasar anticuerpos anti-NOGO-A sobre esta superficie. En la segunda estrategia, se usó proteína A para capturar el anticuerpo sobre la superficie de la microplaca sobre la cual se hizo pasar la NOGO-A56 humana recombinante-GST. Los resultados mostrados en la Tabla 15 se obtuvieron por acoplamiento del antígeno a la superficie y se confirmó que los cuatro anticuerpos mostraban una afinidad comparable/mejor que la del anticuerpo parental (HcLc). Basándose en el promedio de seis procesos independientes, los anticuerpos se clasificaron en el siguiente orden, en lo que respecta a la afinidad global: H27L16 > H28L16 > H28L13 > H20L16, acorde con el orden de clasificación del ELISA de unión directo (Figura 9B). En el caso de H27L16 y H28L16, los anticuerpos humanizados demuestran una afinidad mayor de 2-3x en comparación con la del anticuerpo parental (HcLc).

Tabla 15 - Cinética de unión de los anticuerpos anti-Nogo-A humanizados a la Nogo-A humana recombinante (Nogo-A 56 humana- GST) determinada usando Biacore T100. El anticuerpo se unió a la microplaca CM5 por acoplamiento con amina primaria. Los anticuerpos se extendieron a diversas concentraciones (0,125-8 nM). Los valores muestran la media y la desviación típica (entre paréntesis) de seis procesos diferentes realizados por duplicado. Cada conjunto de datos completo se analizó independiente antes del cálculo de la media y desviación típica. ** Solo de analizaron 11 conjuntos de datos para H20L16 ya que un conjunto no pudo analizarse

Anticuerpo	Ka	Kd	KD (nM)
H20L16 **	5,37E6 (7,65E5)	9,70E-3 (2,65E-3)	1,80 (0,31)
H27L16	3,96E6 (9,93E5)	2,30E-3 (1,11E-3)	0,56 (0,15)
H28L13	8,13E6 (1,35E6)	9,10E-3 (2,65E-3)	1,11 (0,18)
H28L16	6,97E6 (6,62E5)	43E-3 (1,18 E-3)	0,64 (0,15)
HcLc	3,80E6 (7,11E5)	7,09E-3 (2,22E-3)	1,86 (0,32)

De una manera similar al ELISA, también se evaluó la cinética de unión del anticuerpo a la Nogo-A humana recombinante (Nogo-A 56 humana- GST) en un formato inverso (véase Ejemplo 11.1). En este ensayo, los anticuerpos humanizados se capturaron sobre la microplaca CM5 mediante Proteína A. En la Tabla 16 se muestran los resultados promedio de seis procesos independientes. Coherente con el ELISA en formato inverso, todos los anticuerpos Nogo-A humanizados mostraron cinéticas de unión similares con respecto a la quimera (HcLc) en el Biacore en formato inverso.

Tabla 16 – Cinéticas de unión en formato inverso de los anticuerpos anti-Nogo-A humanizados con respecto a la Nogo-A humana recombinante (Nogo-A56-GST) determinado usando Biacore T100. La proteína A se inmovilizó aproximadamente 4000 RU por amina primaria y se usó para capturar 200-300RU de los anticuerpos de la muestra. La Nogo-A humana recombinante se hizo pasar a través a diversas concentraciones (0,125-8 nM). Los valores muestran la media y la desviación típica (entre paréntesis) de tres procesos independientes por duplicado. Cada conjunto de datos se analizó independientemente antes del cálculo de la media y desviación típica.

Anticuerpo	Ka	kd	KD (nM)
H20L16	1,01 E6(1,35E5)	3,13E-4(2,79E-5)	0,31 (0,036)
H27L16	9,93E5(2,02E4)	3,04E-4(1,83E-5)	0,31(0,019)
H28L13	1,12E6(1,21 ES)	3,84E-4(3,24E-5)	0,34(0,015)
H28L16	1,18E6(8,32E4)	4,01E-4 (2,48E-5)	0,34(0,032)
HcLc	1,38E6(3,70E5)	5,69E-4(1,54E-4)	0,41 (0,062)

11.4 Unión a NOGO humana natural

Para demostrar que los anticuerpos humanizados se unían a la Nogo-A humana natural con un perfil comparable al del anticuerpo parental, se desarrollaron dos ensayos basados en citometría de flujo. En el primer ensayo, se generó una línea celular basada en CHO-K1 que expresaba el dominio extracelular de la Nogo-A humana en la superficie celular. La unión de los anticuerpos anti-Nogo-A humanizados se evaluó por citometría de flujo usando un anti-IgG humana marcado con PE (Sigma, N° P8047). La Figura 12 más adelante muestra un perfil típico para los anticuerpos anti-Nogo-A en la línea celular CHO-Nogo-A. Aunque el ensayo no es suficientemente sensible para diferenciar entre los anticuerpos, los resultados confirman que los cuatro anticuerpos pueden reconocer la Nogo-A humana expresada en la superficie celular a niveles comparables a los de la quimera. Ningún anticuerpo reconoce la línea celular parental (CHO-K1 – datos no mostrados).

En el segundo ensayo, se evaluó la capacidad de los anticuerpos humanizados para unirse a la Nogo-A natural usando una línea celular de neuroblastoma humana - IMR32. Esta línea celular se caracteriza por altos niveles intracelulares/bajos en la superficie celular de la proteína Nogo-A. En un intento para aumentar la señal de unión, el ensayo se preparó para detectar la Nogo-A intracelular (residente en el RE). Las células IMR32 se hicieron permeables y se fijaron antes de la tinción con los anticuerpos anti-Nogo-A humanizados. La unión de los anticuerpos a la Nogo-A se detectó usando un anti-IgG humana secundario marcado con PE (Sigma, N° P8047). Los resultados, mostrados más adelante en la Figura 14, confirman que todos los anticuerpos se unían a la Nogo-A intracelular a niveles comparables o superiores a los del anticuerpo parental HcLc. Estos datos, junto con los resultados de la línea celular CHO-Nogo-A, confirman que los anticuerpos humanizados pueden reconocer una forma más natural de la proteína Nogo-A a niveles comparables o mejores que los de la quimera, HcLc. Los ensayos no son suficientemente sensibles para clasificar el panel de anticuerpos.

11.5 Ensayo de crecimiento neurítico

Los anticuerpos anti-Nogo-A humanizados se sometieron a ensayo para determinar su capacidad para neutralizar la actividad inhibitoria del crecimiento neurítico (CN) de la Nogo-A en un ensayo que se basaba en la cuantificación del CN como se ha descrito anteriormente. Los anticuerpos analizados en el ensayo se seleccionaron en base a su cinética de unión a Nogo-A. Los anticuerpos humanizados de alta afinidad, concretamente, H28L16, H27L16, H20L16 y por referencia su anticuerpos parentales 2A10 (monoclonal de ratón) y HcLc (quimera de ratón humana) se sometieron a ensayo para determinar la neutralización de Nogo-A. Por comparación, el anticuerpo 11 C7 (véase el Ejemplo 13) también se sometió a análisis en el ensayo.

Para analizar la actividad neutralizante de los anticuerpos humanizados seleccionados, se revistieron pocillos con Nogo-A56 humana recombinante-GST y se trataron con diversas concentraciones de anticuerpos a 37 °C durante 1 hora antes de la adición de neuronas granulares del cerebelo (NGC). Los pocillos de control se trataron con HBSS. Se midió la longitud promedio de las neuritas por neurita para cada pocillo. La Figura 14 muestra el resultado de los anticuerpos humanizados analizados en el ensayo. Se usó un panel de anticuerpos de control (IgG control, IgG de ratón purificada; Campath y otros anticuerpos humanizados irrelevantes) para confirmar la especificidad de la actividad. Como un control adicional, se titularon los mismos anticuerpos humanizados sobre placas revestidas con GST. Los resultados confirmaron que H28L16, H27L16 y H20L16 invertían la inhibición mediada por Nogo A del crecimiento neurítico a un grado similar observado para los anticuerpos parentales (2A10 y HcLc). Los efectos

parecían ser contundentes y estables y se observaron con H28L16 en ocho de once experimentos independientes del crecimiento neurítico. En cambio, los anticuerpos humanizados no aumentaron el crecimiento neurítico en las placas revestidas con GST y el panel de anticuerpos de control no mostró ninguna inversión de la inhibición dependiente de la dosis, confirmando que el efecto de los anticuerpos humanizados es específico para la inhibición mediada por Nogo-A. Los datos presentados para el crecimiento neurítico se seleccionaron a partir de diversos experimentos repetidos. Aunque diversas repeticiones, no mostradas, parecieron ser variables por naturaleza, se piensa que los datos mostrados reflejan una actividad verdadera de los anticuerpos de la presente invención en cuanto a la reducción del efecto inhibidor de NOGO en el ensayo del crecimiento neurítico.

Ejemplo 12, Caracterización adicional de H28L 16

12.1 Unión a Nogo-A recombinante de longitud completa

Se investigó la capacidad de los anticuerpos para unirse a la Nogo-A humana recombinante de dominio extracelular de longitud completa (Nogo-A-humana - GST- ECD) mediante un ensayo ELISA de unión directo. En este caso el ECD (dominio extracelular) fue una variante de corte y empalme incluida en la región de la posición de aproximadamente 186-1004 de la NOGO A humana (en la parte de inicio DETFAL (SEC ID N°: 95) y final ELSKTS (SEC ID N°: 96)).

La Nogo-A- humana GST-ECD recombinante se revistió directamente sobre la placa a 1 µg/ml. Los datos mostrados en la Figura 15 confirman que H28L16 podía reconocer a la Nogo-A- humana GST-ECD a niveles comparables o mejores que los parentales (HcLc) o H20L16.

12.2 Inhibición de la Funcionalidad de Fc.

Para mejorar el perfil de seguridad del candidato, los restos L235 y G237 dentro del dominio CH2 de la región constante de la cadena pesada (sistema del índice de EU) se mutaron a restos de alanina reduciendo así la probabilidad de desencadenar funciones efectoras inmunológicas mediadas por anticuerpos. La unión reducida de la C1q humana se usó como un sustituto de inhibición de la funcionalidad de Fc. La Figura 16, más adelante, muestra que H28L16 tiene una actividad de unión a C1 q significativamente reducida en comparación con Campath-IgG1 (tipo silvestre) y comparable a una construcción Campath IgG1 que lleva las mismas mutaciones (anticuerpo con Fc mutado (Fc-)) y Campath IgG4. Estos datos sugieren que las mutaciones del dominio CH2 presentes en H28L16 reducirán significativamente la probabilidad de desencadenar funciones efectoras mediadas por Fc.

12.3 Unión a ortólogos

Para confirmar que H28L16 mostraba afinidad de unión a diversos ortólogos de Nogo-A, comparable a la del anticuerpo parental (HcLc), se realizaron diversos ensayos de unión. La Figura 17 A-D, más adelante, muestra los resultados de un ensayo ELISA de unión directo a la NOGO recombinante (Nogo-A 56 humana- GST) de rata (SEC ID N°: 94), mono cinomolgo (SEC ID N°: 92), mono tití (SEC ID N°: 93) y mono ardilla respectivamente (SEC ID N°: 91). En todos los casos, H28L16 muestra actividad comparable o mejor que la del anticuerpo quimérico (HcLc). Los valores CE50 calculados son muy similares a los calculados para la unión a la Nogo-A humana recombinante.

Usando Biacore, se determinó la cinética de unión de H28L16 a los diversos ortólogos de Nogo-A en comparación con HcLc y 11C7. Las Tablas 17 y 18, más adelante, muestran la cinética de unión en dos formatos diferentes del ensayo. Cuando la Nogo-A recombinante se acopló directamente a la microplaca CM5 (Tabla 17), las cinéticas de unión para rata, mono cinomolgo, mono ardilla y mono tití son muy similares a las de la humana (intervalo = 0,33-0,67nM). Cuando el formato del ensayo se invirtió y los anticuerpos se capturaron sobre la microplaca usando Proteína A (Tabla 18), la afinidad de unión de H28L16 a la Nogo-A de rata es aproximadamente 4 veces menor que para la Nogo-A humana. Se observó una tendencia similar para la Nogo-A de mono cinomolgo (afinidad 8,5x menor que la de la humana) y para los otros ortólogos de primates (afinidad 12-17x menor que la humana). El anticuerpo quimérico HcLc muestra un perfil de unión similar a los ortólogos de Nogo-A en las dos orientaciones del ensayo. Dado que no está claro que formato de ensayo representa mejor la situación *in vivo*, las conclusiones iniciales que pueden extraerse de este estudio son 1) H28L16 ha conservado el perfil de reactividad cruzada del ortólogo asociado con el anticuerpo quimérico HcLc y 2) la afinidad de HcLc por la Nogo-A de rata y de mono cinomolgo está dentro de 4 veces y 8,5 veces de la afinidad para la Nogo-A humana y en determinadas condiciones puede ser muy similar.

Tabla 17 – Cinéticas de unión de H28L 16, 11 C7 y HcLc a los ortólogos recombinantes de la Nogo-A humana determinadas usando Biacore T100. Se capturaron aproximadamente 140-180 RU de los diversos ortólogos de Nogo-A sobre la microplaca CM5 por acoplamiento con amina primaria. Los anticuerpos se extendieron a diversas concentraciones (0,125-8 nM). Los valores muestran la media y la desviación típica (ente paréntesis) o 1-2 procesos independientes realizados por duplicado analizándose independientemente cada conjunto de datos antes del cálculo de la media y desviación típica. *Se descartó un conjunto de curvas debido a curvas no interpretables para el anticuerpo 11C7.

Ortólogo	H28L16			11C7			HcLc		
	Ka	Kd	KD (nM)	Ka	Kd	KD (nM)	Ka	Kd	KD(nM)
Mono cinomolgo (2 procesos)*	4,65E6 (7,47E5)	3,07E-3 (2,37E-4)	0,67 (0,06)	1,47E6 (1,67E5)	3,40E-4 (4,45E-5)	0,23 (0,01)	2,94E6 (7,13E5)	4,78E-3 (6,34E-4)	1,68 (0,35)
Rata (2 procesos)	4,64E6 (2,34E5)	1,54E-3 (3,06E-5)	0,33 (0,01)	8,36E5 (5,58E5)	1,20E-4 (2,14E-5)	0,11 (0,03)	2,53E6 (5,32E4)	2,83E-3 (2,30E-5)	1,12 (0,03)
Mono tití (1 proceso)	4,2E6 (2,47E4)	3,02E-3 (5,09E-5)	0,626 (0,000)	1,16E6 (5,37E4)	2,80E-4 (6,15E-6)	0,24 (0,006)	3,13E6 (2,76E4)	4,44E-3 (1,41 E-4)	1,419 (0,03)
Mono ardilla (1 proceso)	4,46E6 (6,08E4)	2,73E-3 (4,95E-6)	0,61 (0,000)	1,10E6 (3,25E4)	2,86E-4 (1,87E-5)	0,26 (0,010)	3,04E6 (1,64E5)	4,68E-3 (2,11 E-4)	1,54 (0,15)
Ser humano	3,97E6 (6,62E5)	4,43E-3 (1,18E-3)	0,64 (0,15)	1,58E6 (6,42E5)	2,64E-4 (5,57E-5)	0,19 (7,96E-2)	3,80E6 (7,11 E5)	7,09E-3 (2,22E-3)	1,86 (0,32)

Tabla 18 – Cinéticas de unión en formato inverso de H28L16, 11C7 y HcLc a los ortólogos recombinantes de la Nogo-A humana determinadas en Biacore T100. La proteína A se inmovilizó sobre la superficie a aproximadamente 4000 RU y los anticuerpos anti-Nogo-A se capturaron a aproximadamente 300-400 RU. Las proteínas recombinantes (NOGO-A56-GST) se extendieron a diversas concentraciones (0,125-64 nM) dependiendo de la construcción. Todos los procesos se realizaron por duplicado. Los valores muestran la media y la desviación típica (entre paréntesis) de 1-3 procesos independientes realizados cada uno por duplicado y cada conjunto de datos se analizó independientemente antes de calcular la media y la desviación típica.

	H28L16			11C7			HcLc		
Ortólogo	Ka	Kd	KD (nM)	Ka	Kd	KD (nM)	Ka	Kd	KD (nM)
Mono cinomolgo (3 procesos)*	3,26E5 (4,06E3)	1,11E-3 (2,23E-5)	3,41 (0,05)	4,02E5 (6,85E4)	2,97E-4 (1,11 E-5)	0,76 (0,12)	3,03E5 (4,58 E3)	1,41 E-3 (2,84E-5)	4,66 (0,08)
Rata (3 procesos)	3,80E5 (5,68E3)	16,69E-4 (1,24E-5)	1,76 (0,03)	2,83E5 (4,66E4)	1,77E-4 (1,34E-5)	0,64 (0,09)	5,47 sí (1,20E4)	1,10E-3 (2,86E-5)	2,01 (0,07)
Mono tití (1 proceso)	2,22E5 (3,61 E3)	1,09E-3 (7,35E-5)	4,89 (0,25)	1,91 E5 (2,90E3)	2,54E-4 (3,46E-6)	1,33 (0,00)	3,02tes (9,90E2)	1,36E-3 (7,92E-5)	4,51 (0,28)
Mono ardilla (1 proceso)	1,57E5 (2,69E3)	1,08E-3 (5,02E-5)	16,86 (0,20)	1,03E5 (2,12E3)	2,78E-4 (3,61 E-6)	2,69 (0,02)	1,74E5 (2,19E3)	1,29E-3 (7,64E-5)	7,45 (0,34)
Ser humano (1 proceso)	1,20E6 (8,49E4)	4,75E-4 (9,97E-6)	0,40 (0,02)	2,64E5 (3,32E3)	1,49E-4 (1,61 E-5)	0,57 (0,07)	1,32E6 (2,71 E5)	7,00E-4 (3,18 E-5)	0,54 (0,09)

12.4 Propiedades físicas

Las propiedades físico químicas de H28L16 y H20L16 se evaluaron por SEC-HPLC y SDS-PAGE. La SEC-HPLC se realizó a 1,0 ml/minuto usando fosfato sódico 100 mM, cloruro sódico 400 mM pH 6,8 y una columna de acero inoxidable TSK G3000 SW xl de 30 cm x 7,8 mm con detección a 214 nm y 280 nm. La SDS-PAGE se realizó sobre un gel Tris-HCl Novex al 4-20% cargando 10µg de producto y tinción con Sypro Ruby. La C-IEF se realizó en un Beckman MDQ usando 10 ampholines pH 3,5.

Se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 19 – Análisis HPLC (SEC) Cromatografía por exclusión de tamaño de los anticuerpos anti-Nogo-A. Los valores mostrados son porcentajes del anticuerpo asignado a cada una de las tres especies diferentes.

Anticuerpo	Agregado %	Monómero %	Fragmento %
H28L16	0,50	99,50	0,00
H20L16	14,21	85,75	0,05

Tabla 20 – Análisis SDS-PAGE de los anticuerpos anti-Nogo-A. Los valores mostrados son porcentajes del anticuerpo encontrado en las bandas principales.

Anticuerpo	No reducido	Reducido
H28L16	82,4%	HC:67,2%
		LC:27,7%
		H+L:94,9%
H20L16	84,6%	HC: 69,3%
		LC: 26,4%
		H+L: 95,7%

Los datos SEC-HPLC sugieren que H20L16 es más susceptible a agregación que H28L16 (H28L16). Si los datos indicados en el presente documento tienen que repetirse a gran escala, esto podría influir en la capacidad del proceso de fabricación para producir material de calidad aceptable para el uso clínico (>95% monómero). Los datos de SDS-PAGE muestran que ambos candidatos son aceptables mostrando ambos un perfil típico.

Ejemplo 13, Comparación de H28L16 con 11C7

Se generó un anticuerpo anti-Nogo-A murino denominado 11C7, como se describe en el documento WO2004052932, para un epítipo peptídico. Se preparó el 11 C7 quimérico en base a en la información de secuencias proporcionada en el documento WO2004052932. Para comparar los epítopos de unión de 2A10 y 11C7, se estableció un ELISA competitivo para investigar si 11 C7 y 2A10 reconocían un epítipo solapante sobre Nogo-A. Como se muestra más adelante en la Figura 20, H28L16 fue capaz de competir con 2A10 con respecto a la unión a la Nogo-A humana recombinante mientras que 11 C7 no mostró competencia con 2A10, incluso a concentraciones de hasta 100 mcg/ml.

Ejemplo 14: ELISA competitivo para demostrar la capacidad de los péptidos para competir directamente con la NOGO-5+6 humana con respecto a la unión a NOGO H28L16*Procedimiento para el ELISA competitivo*

La capacidad de los péptidos para competir directamente con la NOGO-A (Nogo-A56 humana-GST) para la unión a NOGO H28L16 se evaluó usando un ELISA competitivo. Durante una noche se revistió anti-IgG humana de conejo (Sigma, N° I-9764) a 5 g/ml en tampón bicarbonato sobre placas Nunc immunosorp (100 ul por pocillo) a 4 °C. Las placas se aclararon 3 veces con TBS que contenía Tween al 0,05% (TBST), después se bloquearon con BSA al 1% en TBST a temperatura ambiente durante 1 hora. Después se capturó H28L16 sobre la placa (1 µg/ml, diluido en BSA al 1% en TBST, 50 ul por pocillo) a temperatura ambiente durante 1 hora. Las placas se lavaron 3 veces con TBST. Antes de la adición a los pocillos, los péptidos (de 0 a 100 g/ml) y la NOGO-A56 humana-GST se mezclaron previamente a una concentración de 1 ug/ml (diluido en BSA al 1% en TBST) y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Las placas se lavaron 3 veces con TBST y después se incubaron durante 1 hora con anti-GST de conejo conjugado con peroxidasa (Sigma, N° A7340, 1:2000, diluido en BSA al 1% en TBST) durante 1 hora. Las placas se lavaron 3 veces con TBST y después se incubaron con sustrato de peroxidasa OPD 50 I (Sigma) por pocillo durante 10 minutos. La reacción del color se detuvo por la adición de 25 l de H₂SO₄ concentrado. Usando un lector de placa se midió la absorbancia a 490 nm.

Los resultados mostrados en la Figura 19 confirman que los péptidos 6 y 7, que fueron positivos en el ELISA de mapeo epítipo (Ejemplo 8) pueden competir con la unión de la NOGO-A56 humana-GST a H28L16. Esto sugiere que los péptidos que fueron positivos en el estudio de mapeo epítipo contienen un epítipo para la unión a H28L16. Los péptidos 16 y 17 (que contienen péptidos NOGO, aunque no solapantes con los péptidos 6 o 7), que no contienen el epítipo propuesto, no compiten con NOGO-5+6.

Ejemplo 15: Análisis ELISA de un Anticuerpo Monoclonal Anti NOGO Humanizado basado en las variantes G101S/Q37R del anticuerpo NOGO

Se generó G101S (conocido también como H100 (SEC ID N°: 63)), una variante modificada de la región variable de la cadena pesada de H6 (SEC ID N°: 11) introduciendo una sustitución sencilla, G101S (numeración de Kabat) en la CDR H3, como se ha descrito anteriormente. De manera similar, se generó Q37R, una variante modificada de la región variable de la cadena ligera de L13 (SEC ID N°: 13) introduciendo una sustitución sencilla (Q37R según la numeración de Kabat) en la región marco conservada (para formar L100). La secuencia de proteínas del dominio ligero variable de Q37R se proporciona en la SEC ID N°: 67.

Los genes que codifican versiones de longitud completa de las cadenas pesada y ligera que contienen las sustituciones G101S/Q37R se expresaron en células CHO, como se ha descrito anteriormente, y se sometieron a un ensayo ELISA de unión directo como se ha descrito anteriormente.

En la Figura 20 se muestran los resultados del ensayo ELISA de unión directo cuando se cargó el antígeno a 0,05 ug/ml. Los datos confirman que el anticuerpo H100L100 muestra afinidad de unión comparable a la de la NOGO-A56 humana- GST recombinante cuando se compara con H27L16 y que H100L100 tiene un perfil de unión mejorado cuando se compara con H6L13. Los valores CE50 correspondientes se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 21: Mediciones de CE50 para la variante G101S/Q37R en comparación con H6L13 y H27L16

Anticuerpo	Valor de CE50
H6L13	0,086
H27L16	0,052
H100/L100	0,048

Ejemplo 16: *Análisis Biacore de Anticuerpos Monoclonales Anti NOGO humanizados en base a la variante G101S en la CDR H3*

Se generó H100, una variante modificada de la región variable de la cadena pesada de H6 (SEC ID N°: 11) introduciendo una sustitución sencilla, G101S (numeración de Kabat) en la CDR H3. La secuencia de proteína de la proteína H100 del dominio pesado variable se proporciona en la SEC ID N°: 63. De manera similar, se generaron L100 y L101, variantes modificadas de la región variable de la cadena ligera de L13 (SEC ID N°: 13) introduciendo una sustitución sencilla (numeración de Kabat Q37R y Q45R respectivamente) en la región marco conservada. Las secuencias de proteína de las proteínas L100 y L101 de los dominios ligeros variables se proporcionan en la SEC ID N°: 67 y SEC ID N°: 68 respectivamente.

Las versiones de longitud completa de H100L100 y H100L101 se expresaron en células CHO como se ha descrito anteriormente. La Tabla 21 muestra una comparativa de las afinidades de unión de H6L13 con H100L100 y H100L101 e indica que H100L100 y H100L101 tienen una afinidad de unión mejorada cuando se comparan con H6L13. En este ejemplo, el procedimiento se realizó esencialmente como se describe en el Ejemplo 6 en el que la microplaca CM5 se activó haciendo pasar soluciones de NHS y EDC sobre la microplaca a 5 µl/ml durante 7 minutos y la NOGO se suspendió en tampón de acetato sódico 10 nM (pH 4,5) antes de pasarla sobre la microplaca.

Tabla 22 – Mediciones por Biacore para las variantes de G101S de la cadena pesada variable H6 en combinación con las variantes de la cadena ligera variable L13 en comparación con H6L13.

Anticuerpo	Constante de asociación k_a (1/Ms)	Constante de disociación k_d (1/s)	Afinidad (KD, nM)
H6L13	1,04E+06	7,22E-03	6,97
H100L100	1,28E+07	5,07E-03	0,396
H100L101	1,30E+07	4,29E-03	0,329

Resumen de secuencias de anticuerpos NOGO (Tabla 23)

Descripción	Identificador de secuencia (SEC ID N°)	
	Secuencia de aminoácidos	Secuencia de polinucleótidos
2A10, CDR-H1	1	-
2A10, CDR-H2	2	-
2A10, CDR-H3	3	-
2A10, CDR-L1	4	-
2A10, CDR-L2	5	-
2A10, CDR-L3	6	-
2A10, VH (murino)	7	19
2A10, VL (murino)	8	20
Cadena pesada quimérica Hc	9	21
Cadena ligera quimérica Lc	10	22
Construcción H6 humanizada VH 2A10	11	23
Construcción H16 humanizada VH 2A10	12	24
Construcción L13 humanizada VL 2A10	13	25
Construcción L16 humanizada VL 2A10	14	26
Construcción H6 humanizada de cadena pesada 2A10	15	27
Construcción H16 humanizada de cadena pesada 2A10	16	28
Construcción L13 humanizada de cadena ligera 2A10	17	29
Construcción L16 humanizada de cadena ligera 2A10	18	30
Secuencia líder Campath	31	-
Aminoácidos 586-785 de NOGO A humana (NOGO-A56) fusionada a GST	32	-

(continuación)

Descripción	Identificador de secuencia (SEC ID N°)	
	Secuencia de aminoácidos	Secuencia de polinucleótidos
Construcción H1 humanizada VH 2A10	33	37
Construcción L11 humanizada VL 2A10	34	38
Construcción H1 humanizada cadena pesada 2A10	35	39
Construcción L11 humanizada cadena ligera 2A10	36	40
Construcción H20 humanizada VH 2A10	41	43
Construcción H20 humanizada cadena pesada 2A10 H20	42	44
2A10, CDR-H3 (G95M)	45	
Secuencia del fragmento de NOGO-A de mono tití	46	
Construcción H26 humanizada VH	47	50
Construcción H27 humanizada VH	48	51
Construcción H28 humanizada VH	49	52
Construcción H26 humanizada cadena pesada	53	56
Construcción H27 humanizada cadena pesada	54	57
Construcción H28 humanizada cadena pesada	55	58
Cadena pesada quimérica Hc (G95M)	59	
Epítipo	60	
Construcción H99 humanizada VH 2A10	61	
CDR (G101S)	62	
Construcción H100 humanizada VH	63	
Construcción H101 humanizada VH	64	
Construcción H102 humanizada VH	65	
Construcción H98 humanizada VH	66	
L100 (L13+Q37R)	67	
L101 (L13+Q45R)	68	
L102(L13+Q37R/Q45R)	69	
L103 (L16+Q37R)	70	
L104 (L16+Q45R)	71	
L105(L16+Q37R/Q45R)	72	
Péptido	73	
péptido	74	
Análogo CDR H3	75	
Análogo CDR H3	76	
Análogo CDR H3	77	
Análogo CDR H3	78	
Análogo CDR H3	79	
Análogo CDR H3	80	
Análogo CDR H3	81	
Análogo CDR H3	82	
Análogo CDR H3	83	
Análogo CDR H3	84	
NOGO péptido	85	

(continuación)

Descripción	Identificador de secuencia (SEC ID N°)	
	Secuencia de aminoácidos	Secuencia de polinucleótidos
Análogo CDR H3	86	
Análogo CDR H3	87	
Análogo CDR H3	88	
Análogo CDR H3	89	
Análogo CDR H3	90	
NOGO de mono ardilla (A56) más marcador GST	91	
NOGO de mono cinomolgo (A56) más marcador GST	92	
NOGO de mono tití (A56) más marcador GST	93	
NOGO de rata (A56) más marcador GST	94	
Péptido de NOGO humana	95	
Péptido de NOGO humana	96	

Secuencias

SEC ID N°: 1: 2A10 CDR-H1 SYWMH

5 SEC ID N°: 2: 2A10 CDR-H2
NINPSNGGTNYNEKFKS

SEC ID N°: 3: 2A10 CDR-H3
GQGY

10 SEC ID N°: 4: 2A10 CDR-L1.
RSSKSLLYKDGKTYLN

SEC ID N°: 5: 2A10 CDR-L2
LMSTRAS

SEC ID N°: 6: 2A10 CDR-L3
QQLVEYPLT

15 SEC ID N°: 7: 2A10, VH (murino)

**QVQLQQPGTELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGQLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATLTV
DKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCELGGYWGQGTTLTVSS**

SEC ID N°: 8: 2A10, VL (murino)

**DIVITQDELSNPVTSGESVSI SCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPQSPQLLIYLMSTRASGVSDRFSGSGS
GTDFTLEISR VKAEDVGVIYCQQLVEYPLTFGAGTKLELK**

SEC ID N°: 9: Cadena pesada química Hc

**QVQLQQPGTELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGQLEWIGNINP
SNGGTNYNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCELGGYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV
KENWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK**

20

SEC ID Nº: 10: Cadena ligera quimérica Lc

**DIVITQDELSNPVTSGESVSI SCRSSKSLLYKDGTKYLNWFLQRPQGSPQLLI
IYLMSTRASGVSDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIYCCQLVEYPLTFGQGTKEIKRTVAAPSVFI
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKV
YACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC**

SEC ID 11: Construcción H6 humanizada de VH de 2A10

**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGGGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSRATMTR
DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVIYCCQLVEYPLTFGQGTKEIK**

5 SEC ID Nº: 12 Construcción H16 humanizada de VH de 2A10

**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGGGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATLT
DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVIYCCQLVEYPLTFGQGTKEIK**

SEC ID Nº: 13: Construcción L13 humanizada de VL de 2A10

**DIVMTQSPSLSPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGTKYLNWFLQRPQGSPQLLIYLMSTRASGVSDRFSGGSG
GTDFTLKISRVEAEDVGVIYCCQLVEYPLTFGQGTKEIK**

SEC ID Nº: 14: Construcción L16 humanizada de VL de 2A10

**DIVMTQSPSLSPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGTKYLNWFLQRPQGSPQLLIYLMSTRASGVSDRFSGGSG
GTDFTLKISRVEAEDVGVIYCCQLVEYPLTFGQGTKEIK**

10

SEC ID Nº: 15: Construcción H6 humanizada de cadena pesada de 2A10

**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGGGLEWIGNINP
SNGGTNYNEKFKSRATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVIYCCQLVEYPLTFGQGTKEIKRTVAAPSVFI
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHCTCPPELAPGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREBQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFPLYSKLTVDKSRW
QQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK**

SEC ID Nº: 16: Construcción H16 humanizada de cadena pesada de 2A10

**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGGGLEWIGNINP
SNGGTNYNEKFKSKATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVIYCCQLVEYPLTFGQGTKEIKRTVAAPSVFI
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHCTCPPELAPGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREBQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFPLYSKLTVDKSRW
QQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK**

15 SEC ID Nº: 17: Construcción L13 humanizada de cadena ligera de 2A10

**DIVMTQSPSLSPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGTKYLNWFLQRPQGSPQLLI
YLMSTRASGVSDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIYCCQLVEYPLTFGQGTKEIKRTVAAPSVFI
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKV
ACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC**

SEC ID Nº: 18: Construcción L16 humanizada de cadena ligera de 2A10

**DIVMTQSPSLSPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGTKYLNWFLQRPQGSPQLLI
YLMSTRASGVSDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIYCCQLVEYPLTFGQGTKEIKRTVAAPSVFI
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKV
ACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC**

SEC ID Nº: 19: PN que codifica 2A10, SEC ID 7 de VH (murina)

CAGGTCCAACATGCAGCAGCCTGGGACTGAACTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGCTGTCTGCAAGGCT
TCTGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCTGGACAAGGCTTGAGTGGATT
GGAAATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAAGGCCACACTGACTGTA
GACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTATTGT
GAACTGGGACAGGGCTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

SEC ID Nº: 20: PN que codifica 2A10, SEC ID 8 de VH (murina)

GATATTGTGATAACCCAGGATGAACTCTCCAATCCTGTCACTTCTGGAGAATCAGTTTCCATCTCCTGCAGG
TCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCTGCAGAGACCAGGACAATCT
CCTCAGCTCCTGATCTATTTGATGTCCACCCGTGCATCAGGAGTCTCAGACCGGTTTGTAGTGGCAGTGGGTCA
GGAACAGATTTACCCCTGGAATCAGTAGAGTGAAGGCTGAGGATGTGGGTGTGTATTACTGTCAACAACCTT
GTAGAGTATCCGCTCACGTTCCGTGTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

5 SEC ID Nº: 21: PN que codifica la cadena pesada quimérica Hc SEC ID 9

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTTTGGTAGCAGCAGCTACAGGTGTCCACTCCCAGGTCCAACATGCAG
CAGCCTGGGACTGAACTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGCTGTCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTC
ACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCTGGACAAGGCTTGAGTGGATTGGAAATATTAATCCT
AGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAAGGCCACACTGACTGTAGACAAATCCTCCAGC
ACAGCTTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTATTGTGAACTGGGACAGGGC
TACTGGGGCCAAGGCACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG
GTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCTCA
GGACTCTACTCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC
GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTGTGACAAAACCTCACACA
TGCCCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGCACCGTCAGTCTTCTTCTTCCCCCAAAAACCAAGGAC
ACCCTCATGATCTCCTCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTC
AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAC
AGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA
CCACAGGTGTACACCTTGCCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTGAGCTGACCTGCCTGGTC
AAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACC
ACGCTCCCGTGTCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG
CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGTAAATGA

SEC ID Nº: 22: SEC ID: PN que codifica la cadena ligera quimérica Lc SEC ID:10

ATGAGGTGCTCTCTTCAGTTTCTGGGGGTGCTTATGTTCTGGATCTCTGGAGTCACTGGGGATATTGTGATA
ACCCAGGATGAACTCTCCAATCCTGTCACTTCTGGAGAATCAGTTTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGT
CTCCTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCTGCAGAGACCAGGACAATCTCCTCAGCTCCTG
ATCTATTGTATGTCCACCCGTGCATCAGGAGTCTCAGACCGTTTGTAGTGGCAGTGGGTGAGAACAGATTTC
ACCTCGAAATCAGTAGAGTGAAGGCTGAGGATGTGGGTGTGTATTACTGTCAACAACCTTGTAGAGTATCCG
CTCACGTTCCGTGTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCTATCTTCCG
CCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAG
GCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGACAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGAC
AGCAAGGACAGCACCTACAGCTCAGCAGCACCTGACGTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTC
TACGCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCTGAGCTCGCCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG

SEC ID Nº: 23: PN que codifica la construcción H6 humanizada de VH de 2A10 SEC ID: 11

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCTGCAAGGCA
TCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATC
GGAAATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGCCACCATGACCAGG
GACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT
GAACTGGGACAGGGCTACTGGGGCCAAGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEC ID Nº: 24: PN que codifica la construcción H16 humanizada de VH de 2A10 SEC ID: 12

**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCA
TCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAACAGCGACCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATC
GGAAATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAAGCCACCCTCACCGTC
GACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT
GAACTGGGACAGGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA**

SEC ID Nº: 25: PN que codifica la construcción L13 humanizada de VL de 2A10 SEC ID: 13

**GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCCGTACCCCTTGGACAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGG
TCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCAGCAGAGGGCCAGGCCAATCT
CCACAGCTCCTAATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCAGACAGATTACAGCGCGGTGGGTCA**

**GGCACTGATTTACACTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACCTT
GTAGAGTATCCGCTCACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA**

5 SEC ID Nº: 26: PN que codifica la construcción L16 humanizada de VL de 2A10 SEC ID: 14

**GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCAACCCCGTCACCCCTTGGACAGCCGGTCTCCATCTCCTGCAGG
TCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCTCCAGAGGGCCAGGCCAATCT
CCACAGCTCCTAATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCAGACAGATTACAGCGCGGTGGGTCA
GGCACTGATTTACACTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACCTT
GTAGAGTATCCGCTCACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA**

SEC ID Nº: 27: PN que codifica la construcción H6 humanizada de cadena pesada de 2A10 SEC ID: 15

**ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCAGGTGCAGCTGGTG
CAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTC
ACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATATTAATCCT
AGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGCCACCATGACCAGGGACAGTCCACGAGC
ACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACGGGACAGGGC
TACTGGGGCCAGGGAACTAGTCAAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG
GTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGGTGCACACCTTCCGGCTGTCTACAGTCTCTCA
GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC
GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACA
TGCCCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGCACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGAC
ACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTC
AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAC
AGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTTGACCAGGACTGGCTGAAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA
CCACAGGTGTACACCTTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTC
AAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACC
ACGCTTCCCGTGTCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG
CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGTAAATGA**

SEC ID Nº: 28: PN que codifica la construcción H16 humanizada de cadena pesada de 2A10 SEC ID: 16

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCAGGTGCAGCTGGTG
CAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTCAGTGAAGGTTTCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTC
ACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAACAGCGACCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATATTAATCCT
AGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAAGCCACCCTCACCGTCGACAAATCCACGAGC
ACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACCTGGACAGGGC
TACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG
GTGACGGTGTCTGTGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGCTGTCTACAGTCTCTCA
GGACTCTACTCCCTCAGCAGCCTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC
GTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACA
TGCCACACCGTGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGCACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAAGGAC
ACCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTCACTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTG
AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAATAATGCCAAGACAAGCCCGGGAGGAGCAGTACAAC
AGCAGTACCGTGTGGTTCAGCGTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA
CCACAGGTGTACACCTTGCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGC
AAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACC
ACGCTTCCGTGTCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG
CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAATGA

SEC ID Nº: 29: PN que codifica la construcción L13 humanizada de cadena ligera de 2A10 SEC ID: 17

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCGATATTGTGATGACC
CAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGACAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTC
CTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCACAGCTCCTAATT
TATTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGTCCAGACAGATTGAGCGGCGGTGGGTGAGGCACTGATTTTACA
CTGAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCTC
ACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCTATCTTCCCGCCA
TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGGCC
AAAGTACAGTGAAGGTGGACAACGCCCTCCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTAC
GCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG

SEC ID Nº: 30: PN que codifica la construcción L16 humanizada de cadena ligera de 2A10 SEC ID: 18

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCGATATTGTGATGACC
CAGTCTCCACTCTCCAACCCCTCACCCTGGACAGCCGGTCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTC
CTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCTCCAGAGGCCAGGCCAATCTCCACAGCTCCTAATT
TATTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGTCCAGACAGATTGAGCGGCGGTGGGTGAGGCACTGATTTTACA
CTGAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCTC
ACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCTATCTTCCCGCCA
TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGGCC
AAAGTACAGTGAAGGTGGACAACGCCCTCCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTAC
GCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG

SEC ID Nº: 31: Secuencia líder Campath
MGWSCILFLVATATGVHS

SEC ID Nº: 32: Aminoácidos 586-785 de la NOGO A humana (NOGO-A56) fusionada a GST

.MSPILGYWKIKGLVQPTRLLLEYLEEKYEENLYERDEGDKWRNKKFELGLEFPNLPYYIDGDVKLTQSMATII
RYIADKHINMLGGCPKERAISMLEGAVLDIRYGVSRJAYSXDFETLKVDFLSKLPEMLKMPEDRLCHKTYLN
GDHVTHPDFMLYDALDVLYMDPMCLDAFPKLVCFKKRIEAIQIDKYLKSSKYIAWPLQGWQATFGGGDHP
PKSDLEVLFGQLGSMQESLYPAAQLCPSFESEATPSPVLPDIVMEAPLNSAVPSAGASVIQPSSSPLEAS
SVNYESIKEPENPPPYEAMSVSLKKVSGIKERIKEPENINAALQETEAPYISIACDLIKETKLSAEPAPD
FSDYSEMAKVEQVPVDPHSELVEDSSPDSEPVDLFSDDSIPDVPQKQDETVMVLKESLTETSFESMIEYENKE
LERPHRD

SEC ID Nº: 33: Construcción H1 humanizada de VH de 2A10

**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNINP
DTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCELGGYWGQGLTVTVSS**

SEC ID Nº: 34: Construcción L11 humanizada de VL de 2A10

**DIVITQSPSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGTKYLNWFQQRPGQSPQLLIYLMSTRASGVPDRFSGGGS
GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIK**

5 SEC ID Nº: 35: Construcción H1 humanizada de cadena pesada de 2A10

**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNINP
SNGGTNYNEKFKSRVTMTTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCRLGGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREBQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFPSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK**

SEC ID Nº: 36: Construcción L11 humanizada de cadena ligera de 2A10

**DIVITQSPSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGTKYLNWFQQRPGQSPQLLI
YLMSTRASGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFI
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTYSLSSITLTSKADYEKHKVY
ACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC**

SEC ID Nº: 37: PN que codifica la construcción H1 humanizada de VH de 2A10 SEC ID: 33

**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCA
TCTGGATACACCTTCACCACTACTGGATGCAGTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATG
GGAAATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGTCACCATGACCAGG
GACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT
GAACTGGGACAGGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA**

10

SEC ID Nº: 38: PN que codifica la construcción L11 humanizada de VL de 2A10 L11 SEC ID: 34

**GATATTGTGATAACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGACAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGG
TCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGTTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCT
CCACAGCTCCTAATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCCAGACAGATTGAGCGCGGTGGGTCA
GGCACTGATTTCACTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTT
GTAGAGTATCCGCTCACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA**

SEC ID Nº: 39: PN que codifica cadena pesada H1 humanizada de 2A10 SEC ID: 35

ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTG
CAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCTTGCAAGGCATCTGGATACACCTTC
ACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAATATTAATCCT
AGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGC
ACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACCTGGACAGGGC
TACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG
GTGACGGTGTCTGTGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCTCA
GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC
GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACA
TGCCCAACCGTGGCCAGCACCTGAACCTCGCGGGGACACCGTCACTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGAC
ACCTTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTG
AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAC
AGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCTCAGCCTGCGGCTGAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA
CCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCTGACCTGCCTGGTC
AAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACC
ACGCTTCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG
CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEC ID Nº: 40: PN que codifica la construcción L11 de cadena ligera humanizada de 2A10 SEC ID: 36

ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCGATATTGTGATAACC
CAGTCTCCACTCTCCCTGCCCCGTCAACCTTGGACAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTC
CTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCACAGCTCCTAATT
TATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCAGACAGATTACAGCGCGGTGGGTGAGGCACTGATTTACA
CTGAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACCTGTAGAGTATCCGCTC
ACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCTATCTTCCGCCA
TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAATGCTCTGTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCC
AAAGTACAGTGGAAAGGTGGACAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTAC
GCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG

5 SEC ID Nº: 41: Construcción H20 humanizada de VH de 2A10

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATMTR
DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELQGGYWGQGLTVTVSS

SEC ID Nº: 42: Construcción H20 humanizada de cadena pesada de 2A10

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNINP
SNGGTNYNEKFKSKATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELQGGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGLCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDQVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE

PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEC ID Nº: 43: PN que codifica la construcción H20 humanizada de VH de 2A10 SEC ID: 41

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCTTGCAAGGCA
TCTGGATACACCTTACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATC
GGAAATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGCCACCATGACCAGG
GACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT
GAACCTGGACAGGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEC ID N°: 44: PN que codifica la construcción H20 humanizada de cadena pesada de 2A10 SEC ID: 42

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTG
CAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCTTGCAAGGCATCTGGATACACCTTC
ACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATATTAATCCT
AGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGCCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGC
ACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAAC TGGGACAGGGC
TACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGACAGCGGCCCTGGGCTGCTTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG
GTGACGGTGTCTGTGAACCTCAGGCGCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCTCA
GGACTCTACTCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC
GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTG TGACAAAACCTCACACA
TGCCACCCGTGCCCAGCACCTGAACTCGCGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGAC
ACCCTCATGATCTCCCGAGCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCGTGAGGTG
AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAC
AGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTGTCACCCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA
CCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCTGACCTGACCTGCTGGTC
AAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACC
ACGCTCCTCGTGTGGACTCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGGACAAGAGCAGGTGG
CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEC ID N°: 45: CDR-H3 de 2A10 CDR-H3 (G95M)
MQGY

5 SEC ID N°: 46: Secuencia de aminoácidos del fragmento NOGO-A de mono titi

VQDSLCPVAQLCPSEFESEATPSPVLPDIVMEAPLNSAVPSAGASAVQPSSSPLEASSVNFESVKHEPENPP
PYEAMNVSRRKVSIGKEEIKEPESINA AVQETEAPYISIACDLIKETKLSAEP TDFSSYSEMAKVEQPLP
DHSSELVEDSSPDSEPVDFSDSIPDVPQKQDEAVILVKETLTETSFESMIEHENK

SEC ID N°: 47: Construcción H26 humanizada de VH

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNINPSNNGGTNYNEKFKSRATMTR
DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELMQGYWGQGLTVTVSS

SEC ID N°: 48: Construcción H27 humanizada de VH

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNINPSNNGGTNYNEKFKSKATLTV
DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELMQGYWGQGLTVTVSS

10

SEC ID N°: 49: Construcción H28 humanizada de VH

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNINPSNNGGTNYNEKFKSKATMTR
DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELMQGYWGQGLTVTVSS

SEC ID N°: 50: PN que codifica la construcción H26 humanizada de VH SEC ID: 47

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCTTGCAAGGCA
TCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTTGGACAAGGGCTTGAGTGGATC
GGAAATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGCCACCATGACCAGG
GACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT
GAACTGATGCAGGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

15 SEC ID N°: 51: PN que codifica la construcción H27 humanizada de VH SEC ID: 48

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCTTGCAAGGCA
TCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAACAGCGACCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATC
GGAAATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAAGCCACCTCACCCTG
GACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT
GAACTGATGCAGGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEC ID Nº: 52: PN que codifica la construcción H28 humanizada de VH SEC ID: 49

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCTGCAAGGCA
TCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATC
GGAAATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGCCACCATGACCAGG
GACACGTCCACGAGCAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT
GAAGTATGCAGGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEC ID Nº: 53: Construcción H26 humanizada de cadena pesada

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNINP
SNGGTNYNEKPKSRATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELMQGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPRE
PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK.

5 SEC ID Nº: 54: Construcción H27 humanizada de cadena pesada

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNINP
SNGGTNYNEKPKSKATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELMQGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPRE
PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEC ID Nº: 55: Construcción H28 humanizada de cadena pesada

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNINP
SNGGTNYNEKPKSKATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELMQGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPRE
PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEC ID Nº: 56: PN que codifica la construcción H26 humanizada de cadena pesada SEC ID: 53

ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTG
CAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTC
ACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATATTAATCCT
AGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGCCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGC
ACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAAGTGTGACAGGGC
TACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG
GTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAAGCGGTGACACCTTCCCGGTGTCTCTACAGTCTCA
GGACTCTACTCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC
GTGAATCAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAATCTGTGACAAAACCTCACACA
TGCCCAACCGTGCCAGCACCTGAAGTCCGCGGGGCACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAGAAACCAAGGAC
ACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTG
AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAGCAGTACAAC
AGCAGCTACCGTGTGGTCAAGTCTCCTCAGCCTGCTGACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGTCTCCAAGAAAGCCCTCCAGCCCCATCCAGAGAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCGAGAA
CCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTGAGCCTGACCTGCTGGTGC
AAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAAACAACTACAAGACC

ACGCCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG
CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEC ID Nº: 57: PN que codifica la construcción H27 humanizada de cadena pesada SEC ID: 54

ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTG
CAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTC
ACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAACAGCGACCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATATTAATCCT
AGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAAGCCACCCTCACCGTCGACAAATCCACGAGC
ACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACCTGATGCAGGGC
TACTGGGGCCAGGGAACTAGTCACAGTCTCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG
GTGACGGTGTCTGTGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGCTGTCTACAGTCTCTCA
GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC
GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAACTACACA
TGCCCAACCGTGCCAGCACCTGAACCTCGCGGGGCACCGTCACTCTTCTTCCCCCAAAACCAAGGAC
ACCTCATGATCTCCCCGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGT
AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAGCAGTACAA
AGCAGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCAACCGTCTGACACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA
CCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTC
AAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAAACAACTACAAGACC
ACGCTTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG
CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEC ID Nº: 58: PN que codifica la construcción de H28 humanizada de cadena pesada SEC ID: 55

ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTG
CAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTC
ACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATATTAATCCT
AGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAAGCCACCATGACCAGGGACAGTCCACGAGC
ACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACCTGATGCAGGGC
TACTGGGGCCAGGGAACTAGTCACAGTCTCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG
GTGACGGTGTCTGTGAACCTCAGGCGCCCTGACACAGCGGCGTGACACCTTCCCGCTGTCTTACAGTCTCTCA
GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC
GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAACTACACA
TGCCCAACCGTGCCAGCACCTGAACCTCGCGGGGCGACCGTCACTCTTCTTCTTCCCCCAAAACCAAGGAC
ACCTCATGATCTCCCCGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGT
AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAGCAGTACAAC
AGCAGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGACACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA
CCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTC
AAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAAACAACTACAAGACC
ACGCTTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG
CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

5 SEC ID Nº: 59: Cadena pesada Hc (G95M)

QVQLQPGTELVPKASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGQLEWIGNINP
SNGGTNYNEKPKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSITSEDSAVYYCELMQGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELAGAPSVPLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVHLQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFPLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSQSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGK

SEC ID 60: Epítipo
VLPDIVMEAPLN

SEC ID 61: Construcción H99 humanizada de VH de 2A10

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPQGQLEWMGNINPSNGGTNYNEKFKSRVTMTTR
DTSTSTVYMELSLRSSEDTAVYYCELGQSYWGQGLTVTVSS

SEC ID Nº: 62: CDR H3

GQSY

SEC ID Nº: 63: Construcción H100 humanizada de VH

**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSRATMTR
DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELQGSYWGQGTLLTVSS**

5 SEC ID Nº: 64: Construcción H101 humanizada de VH

**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATLTV
DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELQGSYWGQGTLLTVSS**

SEC ID Nº: 65: Construcción H102 humanizada de VH

**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNINPSNGGTNYNEKFKSRVTMTR
DTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCELMQGYWGQGTLLTVSS**

SEC ID Nº: 66: Construcción H98 humanizada de VH de 2A10

10 **QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNINPSNGGTNYNEKFKSRVTMTR
DTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCELMQGYWGQGTLLTVSS**

SEC ID Nº: 67

**DIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGTKTYLNWFQRPGQSPRLLIYLMSTRASGVPDRFSGGGS
GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIK**

SEC ID Nº: 68

**DIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGTKTYLNWFRQRPGQSPRLLIYLMSTRASGVPDRFSGGGS
GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIK**

15 SEC ID Nº: 69

**DIVMTQSPLSNPVTLGQPVSI SCRSSKSLLYKDGTKTYLNWFRQRPGQSPRLLIYLMSTRASGVPDRFSGGGS
GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIK**

SEC ID Nº: 70

**DIVMTQSPLSNPVTLGQPVSI SCRSSKSLLYKDGTKTYLNWFRQRPGQSPQLLIYLMSTRASGVPDRFSGGGS
GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIK**

SEC ID Nº: 71

20 **DIVMTQSPLSNPVTLGQPVSI SCRSSKSLLYKDGTKTYLNWFLQRPGQSPRLLIYLMSTRASGVPDRFSGGGS
GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIK**

SEC ID Nº: 72

**DIVMTQSPLSNPVTLGQPVSI SCRSSKSLLYKDGTKTYLNWFRQRPGQSPRLLIYLMSTRASGVPDRFSGGGS
GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIK**

SEC ID Nº: 73

TPSPVLPDIVMEAPLN

25 SEC ID Nº: 74

VLPDIVMEAPLNSAVP

SEC ID Nº: 75

RQGY

SEC ID N°: 76
IQGY

SEC ID N°: 77
GDGY

5 SEC ID N°: 78
GIGY

SEC ID N°: 79
GSGY

10 SEC ID N°: 80
GQNY

SEC ID N°: 81
GQYY

SEC ID N°: 82
GQLY

15 SEC ID N°: 83
GQFY

SEC ID N°: 84
GQGW

20 SEC ID N°: 85
YESIKHEPENPPPYEE

SEC ID N°: 86
WQGY

SEC ID N°: 87
GAGY

25 SEC ID NO.88
GLGY

SEC ID N°: 89
GVGY

30 SEC ID N°: 90
GQWY

SEC ID N°: 91

**MSPILGYWKIKGLVQPTRLLLEYLEEKYEEHLYERDEGDKWRNKKFELGLEFPNLPYYIDGDVKLTQSMAI I
RYIADKHNMLGGCPKERAEISMLEGAVLDIRYGVSR IAYSKDFETLKVDFLSKLPEMLKMFEDRLCHKTYLN
GDHVTHPDFMLYDALDVVLYMDPMCLDAFPKLVCFKKRIEAIPOIDKYLKSSKYIAWPLQGWQATFGGGDHP
PKSDLEVLFGGPLGSMQESLYPVAQLCPSFESEATPSPVLPDIVMEAPLNSAVPSAVASAVQPSLSPLEAS
SVNYESVKHEPENPPPYEEAMNVS LKKVSGIKEEIKEPES IKA AVQETEAPYIS IACDLIKETKLSAEPTPD
FSNYSEMAKVEQPLPDHSEIVEDSSPDSEPVDLFSDDSI PDVPQKQDEAVILVKENLTETSFESMIEHENKL
ERPHRD**

SEC ID N°: 92

**MSPILGYWKIKGLVQPTRLLLEYLEEKYEEHLYERDEGDKWRNKKFELGLEFPNLPYYIDGDVKLTQSMAI I
RYIADKHNMLGGCPKERAEISMLEGAVLDIRYGVSR IAYSKDFETLKVDFLSKLPEMLKMFEDRLCHKTYLN
GDHVTHPDFMLYDALDVVLYMDPMCLDAFPKLVCFKKRIEAIPOIDKYLKSSKYIAWPLQGWQATFGGGDHP
PKSDLEVLFGGPLGSKMDLVQTSEVMQESLYPAAQLCPSFESEATPSPVLPDIVMEAPLNSAVPSAGASAV
QPSSSPLBASSVNYESI IHEPENPPPYEEAMSVSLKKVSGIKEEIKEPES INA AVQETEAPYIS IACDLIKE**

**TKLSAEPTPDFSDYSEMAKVEQVPDHSSELVEDSSPDSEPVDLFSDDSI PDVPQKQDEAVMLVKENLPETSF
ESMIEHENKEKLSALPPEGSSGRIVTD**

SEC ID Nº: 93

MSPILGYWKIKGLVQPTRLLLEYLEEKYEHLIERDEGDKWRNKKFELGLEFPNLPYYIDGDVKLTQSMAT
 RYIADKHNMLGGCPKERAESMLEGAVLDIRYGVSR IAYSXDFETLKVDFLSKLPEMLKMFEDRLCHKTYLN
 GDHVTHPDFMFLYDALDVVLYMDPMCLDAFPKLVCFKKRIEAIPOIDKYLKSSKYIAWPLQGWQATFGGGDHP
 PKSDLEVLFGQPLGSLVQDSLCPVAQLCPSFEESEATPSVLPDIVMEAPLNSAVPSAGASAVQPSSSPLEAS
 SVNFEVSKHEPENPPPYEEAMNVSRRKVSIGIKEEIKEPESINAAVQETEAPYISIACDLIKETKLSAEPTPD
 FSSYSEMAKVEQPLPDHSELVEDSSPDSEPVDLFSDDSIPEVDPQKQDEAVILVKETLTETSFESMIEHENKL
 ERPHRD

SEC ID Nº: 94

MSPILGYWKIKGLVQPTRLLLEYLEEKYEHLIERDEGDKWRNKKFELGLEFPNLPYYIDGDVKLTQSMAT
 RYIADKHNMLGGCPKERAESMLEGAVLDIRYGVSR IAYSXDFETLKVDFLSKLPEMLKMFEDRLCHKTYLN
 GDHVTHPDFMFLYDALDVVLYMDPMCLDAFPKLVCFKKRIEAIPOIDKYLKSSKYIAWPLQGWQATFGGGDHP
 PKSDLEVLFGQPLGSLVQDSLCPVAQLCPSFEESEATPSVLPDIVMEAPLNSLLPSAGASVVQPSVSPLEAP
 PPVSYDSIKLEPENPPPYEEAMNVALKALGTKEGIKEPESFNAAVQETEAPYISIACDLIKETKLSSTEPSPD
 FSNYSEIAKFEKSVPEHAELVEDSSPESEPVDLFSDDSIPEVDPQTQEEAVMLMKESLTVSETVAQHKEERL

5 SEC ID Nº: 95
 DETFAL

SEC ID Nº: 96
 ELSKTS

LISTADO DE SECUENCIAS

- 10 <110> Paul Andrew Hamblin
 Jonathon Henry Ellis
 Volker Germaschewski
 Ruth Mcadam
- 15 <110> Rabinder Kumar Prinjha
 Stephanie Jane Clegg
 George Kapsidas
- 20 <120> Inmunoglobulinas
- <130> VB61773FF
- <160> 96
- 25 <170> FastSEQ para Windows Versión 4.0
- <210> 1
 <211> 5
 <212> PRT
- 30 <213> Mus musculus
- <400> 1
- 35 <210> 2
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
- 40 <400> 2

Ser Tyr Trp Met His
 1 5

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

ES 2 389 380 T3

5 <210> 3
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 3

Gly Gln Gly Tyr
1

10 <210> 4
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 15 <400> 4

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

20 <210> 5
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 25 <400> 5

Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser
1 5

30 <210> 6
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 6

Gln Gln Leu Val Glu Tyr Pro Leu Thr
1 5

35 <210> 7
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 40 <400> 7

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

<210> 8
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 8
 Asp Ile Val Ile Thr Gln Asp Glu Leu Ser Asn Pro Val Thr Ser Gly
 1 5 10 15
 Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Ser
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu
 85 90 95
 Val Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105 110

<210> 9
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Ab quimérico que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 9

1				5					10				15			
			Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Pro	Gly	Thr	Glu	Leu	Val	Lys	
1				5												
Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	
	15					20						25				
Thr	Ser	Tyr	Trp	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	
	30					35					40				45	
Glu	Trp	Ile	Gly	Asn	Ile	Asn	Pro	Ser	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn	
				50						55					60	
Glu	Lys	Phe	Lys	Ser	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	
				65					70					75		
Thr	Ala	Tyr	Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	
	80							85					90			
Tyr	Tyr	Cys	Glu	Leu	Gly	Gln	Gly	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	
	95						100					105				
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	
	110					115					120				125	
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	
					130					135					140	
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	
				145					150					155		
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	
	160							165					170			
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	
	175						180					185				
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	
	190					195			210		200				205	
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	
				210						215					220	
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	
				225					230					235		
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	
				240				245					250			
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	
	255						260					265				
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	
	270					275					280				285	
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	
					290						295				300	
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	
				305					310					315		
Lys	Val	Ser	Asn													

<210> 10
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Ab quimérico que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 10

10

```

      1                                     15
      Asp Ile Val Ile Thr Gln Asp Glu Leu Ser Asn Pro
      1           5           10
Val Thr Ser Gly Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser
      15           20           25
Leu Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Leu Gln Arg
      30           35           40
Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala
      45           50           55           60
Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
      65           70           75
Thr Leu Glu Ile Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
      80           85           90
Cys Gln Gln Leu Val Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys
      95           100           105
Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
      110           115           120
Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
      125           130           135           140
Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
      145           150           155
Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
      160           165           170
Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
      175           180           185
Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
      190           195           200
Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
      205           210           215

```

<210> 11
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

20

<400> 11

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

<210> 12

<211> 113

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de Ab humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 12

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

<210> 13

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de Ab humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 13

```

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

```

<210> 14

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de Ab humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 14

```

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

```

<210> 15

<211> 443

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 15

```

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

```

Glu	Trp	Ile	Gly	Asn	Ile	Asn	Pro	Ser	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn	65	70	75	80
Glu	Lys	Phe	Lys	Ser	Arg	Ala	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	85	90	95	
Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	100	105	110	
Tyr	Tyr	Cys	Glu	Leu	Gly	Gln	Gly	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	115	120	125	
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	130	135	140	
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	145	150	155	160
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	165	170	175	
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	180	185	190	
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	195	200	205	
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	210	215	220	
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	225	230	235	240
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	245	250	255	
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	260	265	270	
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	275	280	285	
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	290	295	300	
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	305	310	315	320
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	325	330	335	
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	340	345	350	
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	355	360	365	
Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	370	375	380	
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	385	390	395	400
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	405	410	415	
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	420	425	430	
Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	435	440	445	
Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			450	455	460	

<210> 16

<211> 443

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 16

1				5					10				15		
			Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys
			20					25					30		
Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe
	35						40					45			
Thr	Ser	Tyr	Trp	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
	50					55					60				
Glu	Trp	Ile	Gly	Asn	Ile	Asn	Pro	Ser	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn
65				70					75						80
Glu	Lys	Phe	Lys	Ser	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser
			85					90						95	
Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val
	100						105						110		
Tyr	Tyr	Cys	Glu	Leu	Gly	Gln	Gly	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
	115						120					125			
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
	130					135					140				
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
145				150					155						160
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
			165					170						175	
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
	180						185					190			
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
	195						200					205			
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
	210				215						220				
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
225				230					235						240
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe
			245					250						255	
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
	260						265					270			
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
	275					280						285			
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
	290				295						300				
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
305				310					315						320
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
			325					330						335	
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
	340						345						350		
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
	355						360					365			
Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
	370				375						380				
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
385				390					395						400
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
			405					410						415	
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
	420						425					430			
Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
	435					440						445			
Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys		
	450					455					460				

<210> 17
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

10

<400> 17

```

      1             5             10             15
      Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
      20             25             30
Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu
      35             40             45
Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro
      50             55             60
Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser
      65             70             75             80
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
      85             90             95
Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
      100            105            110
Gln Gln Leu Val Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
      115            120            125
Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
      130            135            140
Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
      145            150            155            160
Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
      165            170            175
Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
      180            185            190
Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
      195            200            205
Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
      210            215            220
Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
      225            230            235

```

<210> 18
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

20

<400> 18

```

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

```

25

65					70					75				80	
Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
				85					90					95	
Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys
			100					105					110		
Gln	Gln	Leu	Val	Glu	Tyr	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu
		115					120					125			
Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro
	130					135					140				
Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu
145					150					155				160	
Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn
				165					170					175	
Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser
			180				185						190		
Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala
	195					200						205			
Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly
	210				215						220				
Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys		
225					230					235					

<210> 19
 <211> 339
 <212> ADN
 <213> Mus musculus

<400> 19

cagg	tccaac	tgcagcagcc	tgggactgaa	ctgggtgaagc	ctgggggcttc	agtgaagctg	60
tcct	gcaagg	cttctggcta	caccttcacc	agctactgga	tgcactgggt	gaagcagagg	120
cctg	gacaag	gccttgagtg	gattggaaat	attaatccta	gcaatgggtg	tactaactac	180
aatg	agaagt	tcaagagcaa	ggccacactg	actgtagaca	aatcctccag	cacagcctac	240
atgc	cagctca	gcagcctgac	atctgaggac	tctgcggtct	attattgtga	actgggacag	300
ggct	actggg	gccaaggcac	cactctcaca	gtctctctca			339

<210> 20
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Mus musculus

<400> 20

gatatt	gtga	taaccagga	tgaactctcc	aatcctgtca	cttctggaga	atcagtttcc	60
atctcct	gca	ggtctagtaa	gagtcctcta	tataaggatg	ggaagacata	cttgaattgg	120
tttctgc	aga	gaccaggaca	atctcctcag	ctcctgatct	atttgatgtc	caccctgca	180
tcaggag	tct	cagaccggtt	tagtggcagt	gggtcaggaa	cagatttcac	cctggaaatc	240
agtagagt	ga	aggctgagga	tgtgggtgtg	tattactgtc	aacaacttgt	agagtatccg	300
ctcacgt	tctg	gtgctgggac	caagctggag	ctgaaa			336

<210> 21
 <211> 1389
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo quimérico que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 21

atgggatgga gctgtatcat cctctttttg gtagcagcag ctacaggtgt ccactcccag 60
gtccaactgc agcagcctgg gactgaactg gtgaagcctg gggcttcagt gaagctgtcc 120

tgcaaggctt ctggctacac cttcaccagc tactggatgc actgggtgaa gcagaggcct 180
ggacaaggcc ttgagtggat tggaaatatt aatcctagca atgggtgtac taactacaat 240
gagaagttca agagcaaggc cacactgact gtagacaaat cctccagcac agcctacatg 300
cagctcagca gcctgacatc tgaggactct gcggtctatt attgtgaact gggacagggc 360
tactggggcc aaggcacact agtcacagtc tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttccccctgg caccctcttc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga accgggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ccttccccgc tgctctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660
cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcgcg ggggcaccgt cagtcttctc cttcccccca 780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 1380
ggtaaata 1389

<210> 22

<211> 720

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de anticuerpo quimérico que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 22

atgaggtgct ctcttcagtt tctgggggtg cttatgttct ggatctctgg agtcagtggt 60
gatattgtga taaccagga tgaactctcc aatcctgtca cttctggaga atcagtttcc 120
atctcctgca ggtctagtaa gagtctccta tataaggatg ggaagacata cttgaattgg 180
tttctgcaga gaccaggaca atctcctcag ctccctgatct atttgatgtc caccctgca 240
tcaggagtct cagaccggtt tagtggcagt gggtcaggaa cagatttcac cctggaaatc 300
agtagagtga aggctgagga tgtgggtgtg tattactgtc aacaacttgt agagtatccg 360
ctcacgttcg gtgctgggac caagctggag ctgaaacgta cgggtggctgc accatctgtc 420
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 480
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggga aggtggacaa cgccctccaa 540
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600
agcagcaccg tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 660
gtcaccctac agggcctgag ctgcgccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 23

<211> 339

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

ES 2 389 380 T3

<400> 23

```
cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
tcctgcaagg catctggata caccttcacc agctactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatcggaat attaattcta gcaatgggtg tactaactac 180
aatgagaagt tcaagagcag agccaccatg accaggggaca cgtccacgag cacagcctac 240
```

```
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtga actgggacag 300
ggctactggg gccagggaac actagtcaca gtctcctca 339
```

<210> 24

<211> 339

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 24

```
cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
tcctgcaagg catctggata caccttcacc agctactgga tgcactgggt gaaacagcga 120
cctggacaag ggcttgagtg gatcggaat attaattcta gcaatgggtg tactaactac 180
aatgagaagt tcaagagcaa agccaccctc accgtcgaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtga actgggacag 300
ggctactggg gccagggaac actagtcaca gtctcctca 339
```

<210> 25

<211> 336

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 25

```
gatattgtga tgacccagtc tccactctcc ctgcccgtca cccttggaca gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtaa gagtctccta tataaggatg ggaagacata cttgaattgg 120
tttcagcaga ggccaggcca atctccacag ctccataattt atttgatgtc caccggtgca 180
tctgggggtcc cagacagatt cagcggcggg gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240
agcagggttg aggctgagga tgttgggggt tattactgcc aacaacttgt agagtatccg 300
ctcacgtttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336
```

<210> 26

<211> 336

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 26

```

gatattgtga tgacccagtc tccactctcc aaccccgtca cccttggaca gccggtctcc 60
atctcctgca ggtctagtaa gagtctccta tataaggatg ggaagacata cttgaattgg 120
tttctccaga ggccaggcca atctccacag ctccctaattt atttgatgtc caccctgtgca 180
tctgggggtcc cagacagatt cagcggcggg gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240
agcaggggtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgcc aacaacttgt agagtatccg 300
ctcacgtttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336

```

<210> 27
 <211> 1389
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 27

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacagggtgt ccactcccag 60
gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggcctcagt gaagggttcc 120
tgcaaggcat ctggatacac cttcaccagc tactggatgc actgggtgcg acaggcccct 180
ggacaagggc ttgagtggat cggaatatatt aatcctagca atgggtggtac taactacaat 240
gagaagtcca agagcagagc caccatgacc agggacacgt ccacgagcac agcctacatg 300
gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgaact gggacagggc 360
tactggggcc agggaaacact agtcacagtc tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttccccctgg caccctcctc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ccttccccggc tgtcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaa 660
cccagcaaca ccaagggtgga caagaaagt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgcccaccgt gccagcacc tgaactcgcg ggggcaccgt cagtcttctc cttcccccca 780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa 1080
ccacagggtgt acaccctgcc cccatcccgg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctcttctctc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 1380
ggtaaatga 1389

```

<210> 28
 <211> 1389
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 28

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactcccag 60
gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggcctcagt gaagggttcc 120
tgcaaggcat ctggatacac cttcaccagc tactggatgc actgggtgaa acagcgacct 180
ggacaagggc ttgagtggat cggaaatatt aatcctagca atgggtgtac taactacaat 240
gagaagttca agagcaaagc caccctcacc gtcgacaaat ccacgagcac agcctacatg 300
gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgaact gggacagggc 360
tactggggcc agggaacact agtcacagtc tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttccccctgg caccctcctc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660
cccagcaaca ccaagggtgga caagaaagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcgcg ggggcaccgt cagtcttctt cttcccccca 780
aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccgggga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctctctcttc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 1380

```

ggtaaatga

1389

<210> 29
 <211> 717
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 29

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactccgat 60
attgtgatga cccagtctcc actctccctg cccgtcaccg ttggacagcc ggcctccatc 120
tcctgcaggt ctagtaagag tctcctatat aaggatggga agacatactt gaattgggtt 180
cagcagaggc caggccaatc tccacagctc ctaattttatt tgatgtccac ccgtgcatct 240
ggggtcccag acagattcag cggcggtggg tcaggcactg atttcacact gaaaatcagc 300
agggtggagg ctgaggatgt tggggtttat tactgccaac aacttgtaga gtatccgctc 360
acgtttggcc aggggaccaa gctggagatc aaacgtacgg tggctgcacc atctgtcttc 420
atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgctgtctg 480
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtgggaagg tggacaacgc cctccaatcg 540
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 600
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 660
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 717

```

<210> 30
 <211> 717
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*
 <400> 30

ES 2 389 380 T3

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactccgat 60
attgtgatga cccagtctcc actctccaac cccgtcacc ttggacagcc ggtctccatc 120
tcctgcaggt ctagtaagag tctcctatat aaggatggga agacatactt gaattggttt 180
ctccagagggc caggccaatc tccacagctc ctaatttatt tgatgtccac ccgtgcatct 240
gggggtcccag acagattcag cggcgggtggg tcaggcactg atttcacact gaaaatcage 300
aggggtggagg ctgaggatgt tggggtttat tactgccaac aacttgtaga gtatccgctc 360
acgtttggcc aggggaccaa gctggagatc aaacgtacgg tggctgcacc atctgtcttc 420
atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 480
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggacaacgc cctccaatcg 540
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 600
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 660
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 717

```

<210> 31
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 31

```

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
  1           5           10           15
Val His Ser

```

<210> 32
 <211> 439
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens

<400> 32

Met 1	Ser	Pro	Ile	Leu 5	Gly	Tyr	Trp	Lys	Ile 10	Lys	Gly	Leu	Val 15	Gln	Pro
Thr	Arg	Leu	Leu	Leu	Glu	Tyr	Leu	Glu	Glu	Lys	Tyr	Glu	Glu	His	Leu
			20					25					30		
Tyr	Glu	Arg	Asp	Glu	Gly	Asp	Lys	Trp	Arg	Asn	Lys	Lys	Phe	Glu	Leu
		35					40				45				
Gly	Leu	Glu	Phe	Pro	Asn	Leu	Pro	Tyr	Tyr	Ile	Asp	Gly	Asp	Val	Lys
	50					55				60					
Leu	Thr	Gln	Ser	Met	Ala	Ile	Ile	Arg	Tyr	Ile	Ala	Asp	Lys	His	Asn
65				70					75					80	
Met	Leu	Gly	Gly	Cys	Pro	Lys	Glu	Arg	Ala	Glu	Ile	Ser	Met	Leu	Glu
				85				90					95		
Gly	Ala	Val	Leu	Asp	Ile	Arg	Tyr	Gly	Val	Ser	Arg	Ile	Ala	Tyr	Ser
			100					105				110			
Lys	Asp	Phe	Glu	Thr	Leu	Lys	Val	Asp	Phe	Leu	Ser	Lys	Leu	Pro	Glu
	115						120				125				
Met	Leu	Lys	Met	Phe	Glu	Asp	Arg	Leu	Cys	His	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn
	130					135				140					
Gly	Asp	His	Val	Thr	His	Pro	Asp	Phe	Met	Leu	Tyr	Asp	Ala	Leu	Asp
145				150					155					160	
Val	Val	Leu	Tyr	Met	Asp	Pro	Met	Cys	Leu	Asp	Ala	Phe	Pro	Lys	Leu
				165				170					175		
Val	Cys	Phe	Lys	Lys	Arg	Ile	Glu	Ala	Ile	Pro	Gln	Ile	Asp	Lys	Tyr
			180					185				190			
Leu	Lys	Ser	Ser	Lys	Tyr	Ile	Ala	Trp	Pro	Leu	Gln	Gly	Trp	Gln	Ala
		195					200				205				
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Asp	His	Pro	Pro	Lys	Ser	Asp	Leu	Glu	Val	Leu
	210				215					220					
Phe	Gln	Gly	Pro	Leu	Gly	Ser	Met	Gln	Glu	Ser	Leu	Tyr	Pro	Ala	Ala
225				230					235					240	
Gln	Leu	Cys	Pro	Ser	Phe	Glu	Glu	Ser	Glu	Ala	Thr	Pro	Ser	Pro	Val
			245					250					255		
Leu	Pro	Asp	Ile	Val	Met	Glu	Ala	Pro	Leu	Asn	Ser	Ala	Val	Pro	Ser
			260					265				270			
Ala	Gly	Ala	Ser	Val	Ile	Gln	Pro	Ser	Ser	Ser	Pro	Leu	Glu	Ala	Ser
		275					280					285			
Ser	Val	Asn	Tyr	Glu	Ser	Ile	Lys	His	Glu	Pro	Glu	Asn	Pro	Pro	Pro
	290					295				300					
Tyr	Glu	Glu	Ala	Met	Ser	Val	Ser	Leu	Lys	Lys	Val	Ser	Gly	Ile	Lys
305				310						315				320	
Glu	Glu	Ile	Lys	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Asn	Ala	Ala	Leu	Gln	Glu	Thr
			325						330				335		
Glu	Ala	Pro	Tyr	Ile	Ser	Ile	Ala	Cys	Asp	Leu	Ile	Lys	Glu	Thr	Lys
			340					345				350			
Leu	Ser	Ala	Glu	Pro	Ala	Pro	Asp	Phe	Ser	Asp	Tyr	Ser	Glu	Met	Ala

<211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 33

```

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

```

<210> 34
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 34

```

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

```

<210> 35
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 35

1				5					10				15		
				Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys
				20					25				30		
Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe
		35					40					45			
Thr	Ser	Tyr	Trp	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
	50					55					60				
Glu	Trp	Met	Gly	Asn	Ile	Asn	Pro	Ser	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn
65				70						75					80
Glu	Lys	Phe	Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser
				85					90					95	
Thr	Val	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val
			100					105					110		
Tyr	Tyr	Cys	Glu	Leu	Gly	Gln	Gly	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
		115					120					125			
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
	130					135					140				
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
145				150						155					160
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
				165					170					175	
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
			180					185					190		
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
	195						200					205			
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
	210					215					220				
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
225				230						235					240
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe
				245					250					255	
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
			260					265					270		
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
	275						280					285			
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
	290					295					300				
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
305					310					315					320
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
				325					330					335	
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
			340					345					350		
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
	355						360					365			
Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
	370					375					380				
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
385					390					395					400
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
				405					410					415	
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
			420					425					430		
Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
		435					440					445			
Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys		
	450					455					460				

<210> 36
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

10

<400> 36

1				5					10				15				
				Asp	Ile	Val	Ile	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	
				20					25					30			
Thr	Leu	Gly	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Thr	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Lys	Ser	Leu	
		35						40					45				
Leu	Tyr	Lys	Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Phe	Gln	Gln	Arg	Pro		
	50					55					60						
Gly	Gln	Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Met	Ser	Thr	Arg	Ala	Ser		
65				70						75				80			
Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr		
			85					90					95				
Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys		
			100					105					110				
Gln	Gln	Leu	Val	Glu	Tyr	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu		
		115					120					125					
Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro		
130						135					140						
Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu		
145				150						155				160			
Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn		
				165					170					175			
Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser		
		180						185					190				
Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala			
		195					200					205					
Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly		
210						215				220							
Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys				
225					230					235							

<210> 37
 <211> 339
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

20

<400> 37

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60

tcctgcaagg	catctggata	caccttcacc	agetactgga	tgcactgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaaat	attaatccta	gcaatgggtg	tactaactac	180
aatgagaagt	tcaagagcag	agtcaccatg	accagggaca	cgccacagag	cacagtctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtga	actgggacag	300
ggctactggg	gccaggggaa	actagtcaca	gtctcctca			339

25

<210> 38
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 38

```

gataattgtga taacccagtc tccactctcc ctgcccgtca cccttggaca gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtaa gagtctccta tataaggatg ggaagacata cttgaattgg 120
tttcagcaga ggccaggcca atctccacag ctctaattt atttgatgtc caccctgca 180
tctgggggtcc cagacagatt cagcggcggg gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240
agcagggtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgcc aacaacttgt agagtatccg 300
ctcacgtttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336

```

<210> 39
 <211> 1389
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 39

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacagggtgt ccactcccag 60
gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgagggt aagaagcctg gggcctcagt gaaggtttcc 120
tgcaaggcat ctggatacac cttcaccagc tactggatgc actgggtgcg acaggccccct 180
ggacaagggc ttgagtggat gggaaatatt aatcctagca atgggtggtac taactacaat 240
gagaagttca agagcagagt caccatgacc agggacacgt ccacgagcac agtctacatg 300
gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgaact gggacagggc 360
tactggggcc agggaaacact agtcacagtc tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttccccctgg caccctcttc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaa 660
cccagcaaca ccaagggtgga caagaaagt gagcccaa atgtgtgacaa aactcacaca 720
tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcgcg ggggcaccgt cagtcttctt cttcccccca 780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccaag aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcacgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttct 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 1380
ggtaaatga 1389

```

<210> 40
 <211> 717
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

ES 2 389 380 T3

sapiens

<400> 40

```
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactccgat 60
attgtgataa cccagttctc actctccctg cccgtcacc ttggacagcc ggctccatc 120
tcctgcaggt ctagtaagag tctctatat aaggatggga agacatactt gaattgggtt 180
cagcagaggg caggccaatc tccacagctc ctaatttatt tgatgtccac ccgtgcatct 240
gggggtccag acagattcag cggcgggtggg tcaggcactg atttcacact gaaaatcagc 300
aggggtggagg ctgaggatgt tgggggtttat tactgccaac aacttgtaga gtatccgctc 360
acgtttggcc agggggaccaa gctggagatc aaacgtacgg tggctgcacc atctgtcttc 420
atcttcccg ccatctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgctgtctg 480
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggacaacgc cctccaatcg 540
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 600
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 660
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 717
```

<210> 41

<211> 113

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 41

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

<210> 42

<211> 443

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 42

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

				20						25						30					
Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe						
		35						40				45									
Thr	Ser	Tyr	Trp	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu						
	50					55					60										
Glu	Trp	Ile	Gly	Asn	Ile	Asn	Pro	Ser	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn						
65					70					75					80						
Glu	Lys	Phe	Lys	Ser	Lys	Ala	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser						
				85					90					95							
Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val						
			100					105					110								
Tyr	Tyr	Cys	Glu	Leu	Gly	Gln	Gly	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val						
		115					120					125									
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala						
	130						135				140										
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu						
145					150					155					160						
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly						
				165					170					175							
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser						
			180					185					190								
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu						
		195					200					205									
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr						
	210					215					220										
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr						
225					230					235					240						
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe						
				245					250					255							
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro						
			260					265					270								
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val						
		275					280					285									
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr						
	290					295					300										
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val						
305					310						315				320						
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys						
				325					330					335							
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser						
			340					345					350								
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro						
		355					360					365									
Ser	Arg	Asp																			

<210> 43
<211> 339
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

5

<400> 43

```

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
tcctgcaagg catctggata caccttcacc agctactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatcggaat attaataccta gcaatgggtg tactaactac 180
aatgagaagt tcaagagcaa ggcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtga actgggacag 300
ggctactggg gccagggaac actagtcaca gtctcctca 339

```

10

<210> 44

<211> 1389

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 44

20

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactcccag 60
gtgcagctgg tgcagtctgg ggotgaggtg aagaagcctg gggcctcagt gaaggtttcc 120
tgcaaggcat ctggatacac cttcaccagc tactggatgc actgggtgag acaggcccct 180
ggacaagggc ttgagtggat cggaaatatt aatcctagca atgggtgtac taactacaat 240
gagaagttca agagcaaggc caccatgacc agggacacgt ccacgagcac agcctacatg 300
gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgaact gggacagggc 360
tactggggcc agggaaact agtcacagtc tctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttccccctgg caccctcctc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag tctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660
cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagt gagcccaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcgcg ggggcaccgt cagtcttctt cttcccccca 780
aaaccceaag acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctcttctctc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 1380
ggtaaatga 1389

```

<210> 45

<211> 4

25

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

30

<400> 45

ES 2 389 380 T3

Met Gln Gly Tyr
1

<210> 46
<211> 200
<212> PRT
<213> Callithrix jacchus

<400> 46

Val	Gln	Asp	Ser	Leu	Cys	Pro	Val	Ala	Gln	Leu	Cys	Pro	Ser	Phe	Glu
1				5					10					15	
Glu	Ser	Glu	Ala	Thr	Pro	Ser	Pro	Val	Leu	Pro	Asp	Ile	Val	Met	Glu
			20					25					30		
Ala	Pro	Leu	Asn	Ser	Ala	Val	Pro	Ser	Ala	Gly	Ala	Ser	Ala	Val	Gln
		35					40					45			
Pro	Ser	Ser	Ser	Pro	Leu	Glu	Ala	Ser	Ser	Val	Asn	Phe	Glu	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	His	Glu	Pro	Glu	Asn	Pro	Pro	Pro	Tyr	Glu	Glu	Ala	Met	Asn	Val
65					70					75				80	
Ser	Arg	Lys	Lys	Val	Ser	Gly	Ile	Lys	Glu	Glu	Ile	Lys	Glu	Pro	Glu
				85					90					95	
Ser	Ile	Asn	Ala	Ala	Val	Gln	Glu	Thr	Glu	Ala	Pro	Tyr	Ile	Ser	Ile
			100					105					110		
Ala	Cys	Asp	Leu	Ile	Lys	Glu	Thr	Lys	Leu	Ser	Ala	Glu	Pro	Thr	Pro
		115					120					125			
Asp	Phe	Ser	Ser	Tyr	Ser	Glu	Met	Ala	Lys	Val	Glu	Gln	Pro	Leu	Pro
	130					135					140				
Asp	His	Ser	Glu	Leu	Val	Glu	Asp	Ser	Ser	Pro	Asp	Ser	Glu	Pro	Val
145					150					155				160	
Asp	Leu	Phe	Ser	Asp	Asp	Ser	Ile	Pro	Asp	Val	Pro	Gln	Lys	Gln	Asp
				165					170					175	
Glu	Ala	Val	Ile	Leu	Val	Lys	Glu	Thr	Leu	Thr	Glu	Thr	Ser	Phe	Glu
			180					185					190		
Ser	Met	Ile	Glu	His	Glu	Asn	Lys								
		195					200								

<210> 47
<211> 113
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 47

```

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

```

<210> 48
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*
 <400> 48

```

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

```

<210> 49
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 49

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

<210> 50
 <211> 339
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 50

caggtgcagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctggggcctc	agtgaagggtt	60
tcctgcaagg	catctggata	caccttcacc	agctactgga	tgcaactgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatcggaat	attaatccta	gcaatgggtg	tactaactac	180
aatgagaagt	tcaagagcag	agccaccatg	accagggaac	cgtccacgag	cacagcctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtga	actgatgcag	300
ggctactggg	gccagggaac	actagtcaca	gtctcctca			339

<210> 51
 <211> 339
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 51

caggtgcagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctggggcctc	agtgaagggtt	60
tcctgcaagg	catctggata	caccttcacc	agctactgga	tgcaactgggt	gaaacagcga	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatcggaat	attaatccta	gcaatgggtg	tactaactac	180
aatgagaagt	tcaagagcaa	agccaccctc	accgtcgaca	aatccacgag	cacagcctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtga	actgatgcag	300
ggctactggg	gccagggaac	actagtcaca	gtctcctca			339

<210> 52
 <211> 339
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

ES 2 389 380 T3

<400> 52

```

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
tcctgcaagg catctggata caccttcacc agctactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatcggaat attaataccta gcaatgggtg tactaactac 180
aatgagaagt tcaagagcaa ggccaccatg accagggaca cgtccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtga actgatgcag 300
ggctactggg gccaggggaac actagtcaca gtctcctca 339

```

5

<210> 53
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

15

<400> 53

```

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

```

				20				25					30		
Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe
		35					40					45			
Thr	Ser	Tyr	Trp	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
	50					55					60				
Glu	Trp	Ile	Gly	Asn	Ile	Asn	Pro	Ser	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn
65				70						75					80
Glu	Lys	Phe	Lys	Ser	Arg	Ala	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser
				85					90					95	
Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val
			100					105					110		
Tyr	Tyr	Cys	Glu	Leu	Met	Gln	Gly	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
		115					120					125			
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
	130						135				140				
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
145				150						155					160
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
				165					170					175	
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
			180					185					190		
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
		195					200					205			
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
	210					215					220				
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
225				230						235					240
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe
				245					250					255	
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
			260					265					270		
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
		275					280					285			
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
	290					295					300				
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
305				310						315					320
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
				325					330					335	
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
			340					345					350		
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
		355					360					365			
Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
	37														

<210> 54
<211> 443
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

5

<400> 54

1				5					10				15			
				Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys
				20					25				30			
Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	
		35					40					45				
Thr	Ser	Tyr	Trp	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	
	50					55				60						
Glu	Trp	Ile	Gly	Asn	Ile	Asn	Pro	Ser	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn	
65				70					75						80	
Glu	Lys	Phe	Lys	Ser	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	
				85					90					95		
Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	
			100					105					110			
Tyr	Tyr	Cys	Glu	Leu	Met	Gln	Gly	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	
	115						120					125				
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	
	130					135					140					
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	
145				150					155						160	
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	
				165					170					175		
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	
			180					185					190			
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	
	195						200				205					
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	
	210					215					220					
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	
225				230					235						240	
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	
				245					250					255		
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	
			260					265					270			
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	
	275						280					285				
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	
	290					295					300					
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	
305				310					315						320	
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	
				325					330					335		
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	
			340					345					350			
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	
	355						360					365				
Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	
	370					375					380					
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	
385				390					395						400	
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp		
			405						410					415		
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	
	420						425					430				
Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	
				435					440				445			
	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys		
	450						455					460				

<400> 55

1			5					10					15				
			Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys		
			20					25					30				
Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe		
			35				40					45					
Thr	Ser	Tyr	Trp	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu		
			50			55					60						
Glu	Trp	Ile	Gly	Asn	Ile	Asn	Pro	Ser	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn		
65				70						75					80		
Glu	Lys	Phe	Lys	Ser	Lys	Ala	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser		
			85						90					95			
Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val		
			100				105						110				
Tyr	Tyr	Cys	Glu	Leu	Met	Gln	Gly	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val		
			115			120						125					
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala		
			130			135					140						
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu		
145				150						155					160		
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly		
			165						170					175			
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser		
			180				185						190				
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu		
			195			200						205					
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr		
			210			215					220						
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr		
225				230						235					240		
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe		
			245						250					255			
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro		
			260				265						270				
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val		
			275			280						285					
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr		
			290			295					300						
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val		
305				310						315					320		
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys		
			325						330					335			
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser		
			340				345						350				
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu				

Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
370						375				380					
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
385					390					395					400
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
			405						410					415	
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
		420						425					430		
Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
		435					440					445			
Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys		
450						455					460				

<210> 56
 <211> 1389
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 56

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactcccag 60
gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggcctcagt gaagggttcc 120
tgcaaggcat ctggatacac cttcaccagc tactggatgc actgggtgcg acaggcccct 180
ggacaagggc ttgagtggat cggaaatatt aatcctagca atggtggtac taactacaat 240
gagaagttca agagcagagc caccatgacc agggacacgt ccacgagcac agcctacatg 300
gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgaact gatgcagggc 360
tactggggcc agggaaacact agtcacagtc tctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttccccctgg caccctcttc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag tctcaggac tctactcctt cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttggggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaa 660
cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagt ggagccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgcccaccgt gccagcacc tgaactcgcg ggggcaccgt cagtcttctt ctcccccca 780
aaacceaaag acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaag caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctcttctctc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggtctt gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 1380
ggtaaataga                                     1389
    
```

<210> 57
 <211> 1389
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 57

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactcccag 60
gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggcctcagt gaaggtttcc 120

tgcaaggcat ctggatacac cttcaccagc tactggatgc actgggtgaa acagcgacct 180
ggacaagggc ttgagtggat cggaaatatt aatcctagca atgggtggtac taactacaat 240
gagaagttca agagcaaagc caccctcacc gtcgacaaat ccacgagcac agcctacatg 300
gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgaact gatgcagggc 360
tactggggcc agggaaacact agtcacagtc tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttccccctgg caccctcctc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ccttccccggc tgtcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaa 660
cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcgcg ggggcaccgt cagtcttctc cttcccccca 780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgct cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 1380
ggtaaatga 1389

<210> 58
<211> 1389
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 58

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactcccag 60
gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggcctcagt gaagggttcc 120
tgcaaggcat ctggatacac cttcaccagc tactggatgc actgggtgcg acaggcccct 180
ggacaagggc ttgagtggat cggaaatatt aatcctagca atgggtgtac taactacaat 240
gagaagttca agagcaaggc caccatgacc agggacacgt ccacgagcac agcctacatg 300
gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgaact gatgcagggc 360
tactggggcc agggaaacact agtcacagtc tcctcagcct ccaccaaggg cccatcgggc 420
ttccccctgg caacctcttc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660
cccagcaaca ccaagggtga caagaaagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcgcg ggggcaccgt cagtcttcct ctcccccca 780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 1380
ggtaaatga

```

<210> 59

<211> 443

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de anticuerpo quimérico que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 59

ES 2 389 380 T3

1				5					10				15			
				Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Pro	Gly	Thr	Glu	Leu	Val	Lys
				20					25				30			
Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	
		35						40				45				
Thr	Ser	Tyr	Trp	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	
	50					55					60					
Glu	Trp	Ile	Gly	Asn	Ile	Asn	Pro	Ser	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn	
65					70					75					80	
Glu	Lys	Phe	Lys	Ser	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	
				85					90					95		
Thr	Ala	Tyr	Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	
			100					105					110			
Tyr	Tyr	Cys	Glu	Leu	Met	Gln	Gly	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	
		115					120					125				
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	
	130					135					140					
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	
145					150					155					160	
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	
				165					170					175		
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	
			180					185					190			
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	
	195						200					205				
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	
	210					215					220					
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	
225					230					235					240	
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	
				245					250					255		
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	
			260					265					270			
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	
		275					280				285					
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	
	290					295					300					
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	
305					310					315					320	
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	
				325					330					335		
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	
			340					345					350			
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	
		355					360					365				
Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	
	370					375					380					
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	
385					390					395					400	
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	
				405					410					415		
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	
			420					425					430			
Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	
		435					440					445				
Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
	450					455					460					

ES 2 389 380 T3

<210> 60
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 60

 Val Leu Pro Asp Ile Val Met Glu Ala Pro Leu Asn
 1 5 10

 10
 <210> 61
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 15
 <220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

 20
 <400> 61

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

 25
 <210> 62
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 30
 <220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y *Homo sapiens*

 <400> 62

 Gly Gln Ser Tyr
 1

 35
 <210> 63
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 40
 <220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

 <400> 63

```

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

```

<210> 64
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 64

```

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

```

<210> 65
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 65

```

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

```

<210> 66
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 66

```

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

```

<210> 67
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 67

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1           5           10           15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys

```

ES 2 389 380 T3

```

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

```

<210> 68
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 68

```

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

```

<210> 69
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 69

```

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

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

```

<210> 70

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 70

```

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

```

<210> 71

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 71

```

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

```

<210> 72

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 72

```

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

```

<210> 73

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 73

```

Thr Pro Ser Pro Val Leu Pro Asp Ile Val Met Glu Ala Pro Leu Asn
1           5           10           15

```

<210> 74

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

ES 2 389 380 T3

	Val	Leu	Pro	Asp	Ile	Val	Met	Glu	Ala	Pro	Leu	Asn	Ser	Ala	Val	Pro
	1				5					10					15	
5	<210> 75 <211> 4 <212> PRT <213> Secuencia artificial															
10	<220> <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de <i>Mus musculus</i> y de <i>Homo sapiens</i> <400> 75															
15	Arg Gln Gly Tyr 1 <210> 76 <211> 4 <212> PRT <213> Secuencia artificial															
20	<220> <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de <i>Mus musculus</i> y de <i>Homo sapiens</i> <400> 76															
25	Ile Gln Gly Tyr 1 <210> 77 <211> 4 <212> PRT <213> Secuencia artificial															
30	<220> <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de <i>Mus musculus</i> y de <i>Homo sapiens</i> <400> 77															
35	Gly Asp Gly Tyr 1 <210> 78 <211> 4 <212> PRT <213> Secuencia artificial															
40	<220> <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de <i>Mus musculus</i> y de <i>Homo sapiens</i> <400> 78															
45	Gly Ile Gly Tyr 1 <210> 79 <211> 4 <212> PRT <213> Secuencia artificial															
50																
55																

5	<220> <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de <i>Mus musculus</i> y de <i>Homo sapiens</i> <400> 79
	Gly Ser Gly Tyr 1
10	<210> 80 <211> 4 <212> PRT <213> Secuencia artificial
15	<220> <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de <i>Mus musculus</i> y de <i>Homo sapiens</i> <400> 80
20	Gly Gln Asn Tyr 1
25	<210> 81 <211> 4 <212> PRT <213> Secuencia artificial
30	<220> <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de <i>Mus musculus</i> y de <i>Homo sapiens</i> <400> 81
35	Gly Gln Tyr Tyr 1
40	<210> 82 <211> 4 <212> PRT <213> Secuencia artificial
45	<220> <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de <i>Mus musculus</i> y de <i>Homo sapiens</i> <400> 82
	Gly Gln Leu Tyr 1
50	<210> 83 <211> 4 <212> PRT <213> Secuencia artificial
55	<220> <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de <i>Mus musculus</i> y de <i>Homo sapiens</i> <400> 83

Gly Gln Phe Tyr
1

5 <210> 84
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 84

Gly Gln Gly Trp
1

15

20 <210> 85
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 85

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

30 <210> 86
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

40 <400> 86

Trp Gln Gly Tyr
1

45 <210> 87
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

50 <220>
<223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de *Mus musculus* y de *Homo sapiens*

<400> 87

Gly Ala Gly Tyr
1

55 <210> 88
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5	<220> <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de <i>Mus musculus</i> y de <i>Homo sapiens</i> <400> 88
	Gly Leu Gly Tyr 1
10	<210> 89 <211> 4 <212> PRT <213> Secuencia artificial
15	<220> <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de <i>Mus musculus</i> y de <i>Homo sapiens</i> <400> 89
20	Gly Val Gly Tyr 1
25	<210> 90 <211> 4 <212> PRT <213> Secuencia artificial
30	<220> <223> Construcción de anticuerpo humanizado que comprende secuencias de <i>Mus musculus</i> y de <i>Homo sapiens</i> <400> 90
35	Gly Gln Trp Tyr 1
40	<210> 91 <211> 438 <212> PRT <213> Saimiri boliviensis <400> 91

Met 1	Ser	Pro	Ile	Leu 5	Gly	Tyr	Trp	Lys	Ile 10	Lys	Gly	Leu	Val	Gln 15	Pro
Thr	Arg	Leu	Leu	Leu	Glu	Tyr	Leu	Glu	Glu	Lys	Tyr	Glu	Glu	His	Leu
			20					25					30		
Tyr	Glu	Arg	Asp	Glu	Gly	Asp	Lys	Trp	Arg	Asn	Lys	Lys	Phe	Glu	Leu
		35					40				45				
Gly	Leu	Glu	Phe	Pro	Asn	Leu	Pro	Tyr	Tyr	Ile	Asp	Gly	Asp	Val	Lys
	50					55				60					
Leu	Thr	Gln	Ser	Met	Ala	Ile	Ile	Arg	Tyr	Ile	Ala	Asp	Lys	His	Asn
65					70				75						80
Met	Leu	Gly	Gly	Cys	Pro	Lys	Glu	Arg	Ala	Glu	Ile	Ser	Met	Leu	Glu
				85					90					95	
Gly	Ala	Val	Leu	Asp	Ile	Arg	Tyr	Gly	Val	Ser	Arg	Ile	Ala	Tyr	Ser
			100					105					110		
Lys	Asp	Phe	Glu	Thr	Leu	Lys	Val	Asp	Phe	Leu	Ser	Lys	Leu	Pro	Glu
		115					120					125			
Met	Leu	Lys	Met	Phe	Glu	Asp	Arg	Leu	Cys	His	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn
	130					135				140					
Gly	Asp	His	Val	Thr	His	Pro	Asp	Phe	Met	Leu	Tyr	Asp	Ala	Leu	Asp
145					150					155					160
Val	Val	Leu	Tyr	Met	Asp	Pro	Met	Cys	Leu	Asp	Ala	Phe	Pro	Lys	Leu
				165					170					175	
Val	Cys	Phe	Lys	Lys	Arg	Ile	Glu	Ala	Ile	Pro	Gln	Ile	Asp	Lys	Tyr
			180					185					190		
Leu	Lys	Ser	Ser	Lys	Tyr	Ile	Ala	Trp	Pro	Leu	Gln	Gly	Trp	Gln	Ala
		195					200					205			
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Asp	His	Pro	Pro	Lys	Ser	Asp	Leu	Glu	Val	Leu
	210					215					220				
Phe	Gln	Gly	Pro	Leu	Gly	Ser	Met	Gln	Glu	Ser	Leu	Tyr	Pro	Val	Ala
225					230					235					240
Gln	Leu	Cys	Pro	Ser	Phe	Glu	Glu	Ser	Glu	Ala	Thr	Pro	Ser	Pro	Val
				245					250					255	
Leu	Pro	Asp	Ile	Val	Met	Glu	Ala	Pro	Leu	Asn	Ser	Ala	Val	Pro	Ser
			260					265					270		
Ala	Val	Ala	Ser	Ala	Val	Gln	Pro	Ser	Leu	Ser	Pro	Leu	Glu	Ala	Ser
		275					280					285			
Ser	Val	Asn	Tyr	Glu	Ser	Val	Lys	His	Glu	Pro	Glu	Asn	Pro	Pro	Pro
	290					295					300				
Tyr	Glu	Glu	Ala	Met	Asn	Val	Ser	Leu	Lys	Lys	Val	Ser	Gly	Ile	Lys
305					310					315					320
Glu	Glu	Ile	Lys	Glu	Pro	Glu	Ser	Ile	Lys	Ala	Ala	Val	Gln	Glu	Thr
				325					330					335	
Glu	Ala	Pro	Tyr	Ile	Ser	Ile	Ala	Cys	Asp	Leu	Ile	Lys	Glu	Thr	Lys
			340				345		</						

<211> 460
 <212> PRT
 <213> Macaca fascicularis

5

<400> 92

```

Met Ser Pro Ile Leu Gly Tyr Trp Lys Ile Lys Gly Leu Val Gln Pro
 1          5          10          15
Thr Arg Leu Leu Leu Glu Tyr Leu Glu Glu Lys Tyr Glu Glu His Leu
          20          25          30
Tyr Glu Arg Asp Glu Gly Asp Lys Trp Arg Asn Lys Lys Phe Glu Leu
          35          40          45
Gly Leu Glu Phe Pro Asn Leu Pro Tyr Tyr Ile Asp Gly Asp Val Lys
          50          55          60
Leu Thr Gln Ser Met Ala Ile Ile Arg Tyr Ile Ala Asp Lys His Asn
65          70          75          80
Met Leu Gly Gly Cys Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ile Ser Met Leu Glu
          85          90          95
Gly Ala Val Leu Asp Ile Arg Tyr Gly Val Ser Arg Ile Ala Tyr Ser
          100          105          110
Lys Asp Phe Glu Thr Leu Lys Val Asp Phe Leu Ser Lys Leu Pro Glu
          115          120          125
Met Leu Lys Met Phe Glu Asp Arg Leu Cys His Lys Thr Tyr Leu Asn
          130          135          140
Gly Asp His Val Thr His Pro Asp Phe Met Leu Tyr Asp Ala Leu Asp
145          150          155          160
Val Val Leu Tyr Met Asp Pro Met Cys Leu Asp Ala Phe Pro Lys Leu
          165          170          175
Val Cys Phe Lys Lys Arg Ile Glu Ala Ile Pro Gln Ile Asp Lys Tyr
          180          185          190
Leu Lys Ser Ser Lys Tyr Ile Ala Trp Pro Leu Gln Gly Trp Gln Ala
          195          200          205
Thr Phe Gly Gly Gly Asp His Pro Pro Lys Ser Asp Leu Glu Val Leu
          210          215          220
Phe Gln Gly Pro Leu Gly Ser Lys Met Asp Leu Val Gln Thr Ser Glu
225          230          235          240
Val Met Gln Glu Ser Leu Tyr Pro Ala Ala Gln Leu Cys Pro Ser Phe

```

				245					250					255		
Glu	Glu	Ser	Glu	Ala	Thr	Pro	Ser	Pro	Val	Leu	Pro	Asp	Ile	Val	Met	
			260					265					270			
Glu	Ala	Pro	Leu	Asn	Ser	Ala	Val	Pro	Ser	Ala	Gly	Ala	Ser	Ala	Val	
		275					280					285				
Gln	Pro	Ser	Ser	Ser	Pro	Leu	Glu	Ala	Ser	Ser	Val	Asn	Tyr	Glu	Ser	
	290					295					300					
Ile	Ile	His	Glu	Pro	Glu	Asn	Pro	Pro	Pro	Tyr	Glu	Glu	Ala	Met	Ser	
305					310					315					320	
Val	Ser	Leu	Lys	Lys	Val	Ser	Gly	Ile	Lys	Glu	Glu	Ile	Lys	Glu	Pro	
				325					330					335		
Glu	Ser	Ile	Asn	Ala	Ala	Val	Gln	Glu	Thr	Glu	Ala	Pro	Tyr	Ile	Ser	
			340					345					350			
Ile	Ala	Cys	Asp	Leu	Ile	Lys	Glu	Thr	Lys	Leu	Ser	Ala	Glu	Pro	Thr	
		355					360					365				
Pro	Asp	Phe	Ser	Asp	Tyr	Ser	Glu	Met	Ala	Lys	Val	Glu	Gln	Pro	Val	
	370					375					380					
Pro	Asp	His	Ser	Glu	Leu	Val	Glu	Asp	Ser	Ser	Pro	Asp	Ser	Glu	Pro	
385					390					395					400	
Val	Asp	Leu	Phe	Ser	Asp	Asp	Ser	Ile	Pro	Asp	Val	Pro	Gln	Lys	Gln	
				405					410					415		
Asp	Glu	Ala	Val	Met	Leu	Val	Lys	Glu	Asn	Leu	Pro	Glu	Thr	Ser	Phe	
			420					425					430			
Glu	Ser	Met	Ile	Glu	His	Glu	Asn	Lys	Glu	Lys	Leu	Ser	Ala	Leu	Pro	
		435					440					445				
Pro	Glu	Gly	Gly	Ser	Ser	Gly	Arg	Ile	Val	Thr	Asp					
	450					455					460					

<210> 93
<211> 438
<212> PRT
<213> Callithrix jacchus

<400> 93

```

Met Ser Pro Ile Leu Gly Tyr Trp Lys Ile Lys Gly Leu Val Gln Pro
1      5      10      15
Thr Arg Leu Leu Leu Glu Tyr Leu Glu Glu Lys Tyr Glu Glu His Leu
20      25      30
Tyr Glu Arg Asp Glu Gly Asp Lys Trp Arg Asn Lys Lys Phe Glu Leu
35      40      45
Gly Leu Glu Phe Pro Asn Leu Pro Tyr Tyr Ile Asp Gly Asp Val Lys
50      55      60
Leu Thr Gln Ser Met Ala Ile Ile Arg Tyr Ile Ala Asp Lys His Asn
65      70      75      80
Met Leu Gly Gly Cys Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ile Ser Met Leu Glu
85      90      95
Gly Ala Val Leu Asp Ile Arg Tyr Gly Val Ser Arg Ile Ala Tyr Ser
100     105     110
Lys Asp Phe Glu Thr Leu Lys Val Asp Phe Leu Ser Lys Leu Pro Glu
115     120     125
Met Leu Lys Met Phe Glu Asp Arg Leu Cys His Lys Thr Tyr Leu Asn
130     135     140
Gly Asp His Val Thr His Pro Asp Phe Met Leu Tyr Asp Ala Leu Asp
145     150     155     160
Val Val Leu Tyr Met Asp Pro Met Cys Leu Asp Ala Phe Pro Lys Leu
165     170     175
Val Cys Phe Lys Lys Arg Ile Glu Ala Ile Pro Gln Ile Asp Lys Tyr
180     185     190
Leu Lys Ser Ser Lys Tyr Ile Ala Trp Pro Leu Gln Gly Trp Gln Ala
195     200     205

```

```

Thr Phe Gly Gly Gly Asp His Pro Pro Lys Ser Asp Leu Glu Val Leu
210     215     220
Phe Gln Gly Pro Leu Gly Ser Val Gln Asp Ser Leu Cys Pro Val Ala
225     230     235     240
Gln Leu Cys Pro Ser Phe Glu Glu Ser Glu Ala Thr Pro Ser Pro Val
245     250     255
Leu Pro Asp Ile Val Met Glu Ala Pro Leu Asn Ser Ala Val Pro Ser
260     265     270
Ala Gly Ala Ser Ala Val Gln Pro Ser Ser Ser Pro Leu Glu Ala Ser
275     280     285
Ser Val Asn Phe Glu Ser Val Lys His Glu Pro Glu Asn Pro Pro Pro
290     295     300
Tyr Glu Glu Ala Met Asn Val Ser Arg Lys Lys Val Ser Gly Ile Lys
305     310     315     320
Glu Glu Ile Lys Glu Pro Glu Ser Ile Asn Ala Ala Val Gln Glu Thr
325     330     335
Glu Ala Pro Tyr Ile Ser Ile Ala Cys Asp Leu Ile Lys Glu Thr Lys
340     345     350
Leu Ser Ala Glu Pro Thr Pro Asp Phe Ser Ser Tyr Ser Glu Met Ala
355     360     365
Lys Val Glu Gln Pro Leu Pro Asp His Ser Glu Leu Val Glu Asp Ser
370     375     380
Ser Pro Asp Ser Glu Pro Val Asp Leu Phe Ser Asp Asp Ser Ile Pro
385     390     395     400
Asp Val Pro Gln Lys Gln Asp Glu Ala Val Ile Leu Val Lys Glu Thr
405     410     415
Leu Thr Glu Thr Ser Phe Glu Ser Met Ile Glu His Glu Asn Lys Leu
420     425     430
Glu Arg Pro His Arg Asp
435

```

ES 2 389 380 T3

<210> 94
 <211> 432
 <212> PRT
 <213> Rattus rattus

5

<400> 94

Met	Ser	Pro	Ile	Leu	Gly	Tyr	Trp	Lys	Ile	Lys	Gly	Leu	Val	Gln	Pro
1				5				10						15	
Thr	Arg	Leu	Leu	Leu	Glu	Tyr	Leu	Glu	Lys	Tyr	Glu	Glu	His	Leu	
		20						25				30			
Tyr	Glu	Arg	Asp	Glu	Gly	Asp	Lys	Trp	Arg	Asn	Lys	Lys	Phe	Glu	Leu
		35					40					45			
Gly	Leu	Glu	Phe	Pro	Asn	Leu	Pro	Tyr	Tyr	Ile	Asp	Gly	Asp	Val	Lys
	50					55					60				
Leu	Thr	Gln	Ser	Met	Ala	Ile	Ile	Arg	Tyr	Ile	Ala	Asp	Lys	His	Asn
65					70					75					80
Met	Leu	Gly	Gly	Cys	Pro	Lys	Glu	Arg	Ala	Glu	Ile	Ser	Met	Leu	Glu
				85					90					95	
Gly	Ala	Val	Leu	Asp	Ile	Arg	Tyr	Gly	Val	Ser	Arg	Ile	Ala	Tyr	Ser
		100						105					110		
Lys	Asp	Phe	Glu	Thr	Leu	Lys	Val	Asp	Phe	Leu	Ser	Lys	Leu	Pro	Glu
	115						120					125			
Met	Leu	Lys	Met	Phe	Glu	Asp	Arg	Leu	Cys	His	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn
	130					135					140				
Gly	Asp	His	Val	Thr	His	Pro	Asp	Phe	Met	Leu	Tyr	Asp	Ala	Leu	Asp
145					150					155					160
Val	Val	Leu	Tyr	Met	Asp	Pro	Met	Cys	Leu	Asp	Ala	Phe	Pro	Lys	Leu
				165					170					175	
Val	Cys	Phe	Lys	Lys	Arg	Ile	Glu	Ala	Ile	Pro	Gln	Ile	Asp	Lys	Tyr

ES 2 389 380 T3

				180				185					190			
Leu	Lys	Ser	Ser	Lys	Tyr	Ile	Ala	Trp	Pro	Leu	Gln	Gly	Trp	Gln	Ala	
		195					200					205				
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Asp	His	Pro	Pro	Lys	Ser	Asp	Leu	Glu	Val	Leu	
	210					215					220					
Phe	Gln	Gly	Pro	Leu	Gly	Ser	Ile	Gln	Glu	Ser	Leu	Tyr	Pro	Thr	Ala	
225					230					235					240	
Gln	Leu	Cys	Pro	Ser	Phe	Glu	Glu	Ala	Glu	Ala	Thr	Pro	Ser	Pro	Val	
				245					250					255		
Leu	Pro	Asp	Ile	Val	Met	Glu	Ala	Pro	Leu	Asn	Ser	Leu	Leu	Pro	Ser	
			260					265					270			
Ala	Gly	Ala	Ser	Val	Val	Gln	Pro	Ser	Val	Ser	Pro	Leu	Glu	Ala	Pro	
		275					280					285				
Pro	Pro	Val	Ser	Tyr	Asp	Ser	Ile	Lys	Leu	Glu	Pro	Glu	Asn	Pro	Pro	
	290					295					300					
Pro	Tyr	Glu	Glu	Ala	Met	Asn	Val	Ala	Leu	Lys	Ala	Leu	Gly	Thr	Lys	
305					310					315					320	
Glu	Gly	Ile	Lys	Glu	Pro	Glu	Ser	Phe	Asn	Ala	Ala	Val	Gln	Glu	Thr	
				325					330					335		
Glu	Ala	Pro	Tyr	Ile	Ser	Ile	Ala	Cys	Asp	Leu	Ile	Lys	Glu	Thr	Lys	
			340					345					350			
Leu	Ser	Thr	Glu	Pro	Ser	Pro	Asp	Phe	Ser	Asn	Tyr	Ser	Glu	Ile	Ala	
		355					360					365				
Lys	Phe	Glu	Lys	Ser	Val	Pro	Glu	His	Ala	Glu	Leu	Val	Glu	Asp	Ser	
	370					375					380					
Ser	Pro	Glu	Ser	Glu	Pro	Val	Asp	Leu	Phe	Ser	Asp	Asp	Ser	Ile	Pro	
385					390					395					400	
Glu	Val	Pro	Gln	Thr	Gln	Glu	Glu	Ala	Val	Met	Leu	Met	Lys	Glu	Ser	
				405					410					415		
Leu	Thr	Glu	Val	Ser	Glu	Thr	Val	Ala	Gln	His	Lys	Glu	Glu	Arg	Leu	
			420					425					430			

<210> 95
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 95

Asp Glu Thr Phe Ala Leu
1 5

<210> 96
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 96

Glu Leu Ser Lys Thr Ser
1 5

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado o un fragmento del mismo capaz de unirse a la NOGO-A humana, que comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEC ID N°: 49 y una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEC ID N°: 14.
- 5 2. Un anticuerpo aislado como se reivindica en la reivindicación 1 que tiene una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEC ID N°: 55 y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEC ID N°: 18.
3. Un vector de expresión que comprende las secuencias polinucleotídicas codificantes de un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 o 2.
- 10 4. Una célula huésped que comprende un vector de expresión de acuerdo con la reivindicación 3.
5. Una célula huésped de acuerdo con la reivindicación 4, cuya célula comprende un primer vector que codifica la cadena ligera y un segundo vector que codifica la cadena pesada.
6. Un procedimiento para producir un anticuerpo capaz de unirse a la NOGO-A humana, comprendiendo el procedimiento las etapas de: transfectar una célula huésped con un vector de expresión que comprenda un primer polinucleótido que codifique una región variable de la cadena pesada que tenga la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEC ID N°: 49, y un vector de expresión que comprenda un segundo polinucleótido que codifique una región variable de la cadena ligera que tenga la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEC ID N°: 14, y cultivar la célula huésped en condiciones que conduzcan a la secreción del anticuerpo a partir de dicha célula huésped en dicho medio de cultivo.
- 15 7. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6, que adicionalmente comprende la etapa de recuperar del medio de cultivo el anticuerpo secretado.
8. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6 o 7, en el que el primer y segundo polinucleótido están contenidos en un solo vector de expresión.
- 20 9. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-NOGO o un fragmento del mismo como se reivindica en la reivindicación 1 o 2, junto con un diluyente o transportador farmacéuticamente aceptable.
- 25 10. El uso de un anticuerpo anti-NOGO o un fragmento del mismo como se reivindica en la reivindicación 1 o 2, en la preparación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis del ictus y de otras enfermedades/trastornos neurológicos o para el tratamiento de un paciente que padece un traumatismo mecánico del sistema nervioso central o periférico.
- 30 11. Un anticuerpo anti-NOGO como se reivindica en la reivindicación 1 o 2 para su uso en el tratamiento o profilaxis del ictus y de otras enfermedades/trastornos neurológicos o para el tratamiento de un paciente que padece un traumatismo mecánico del sistema nervioso central o periférico.

Figura 1: NOGO – A56 humana –GST revestida a 1,0 mcg/ml. Anticuerpos purificados en ELISA

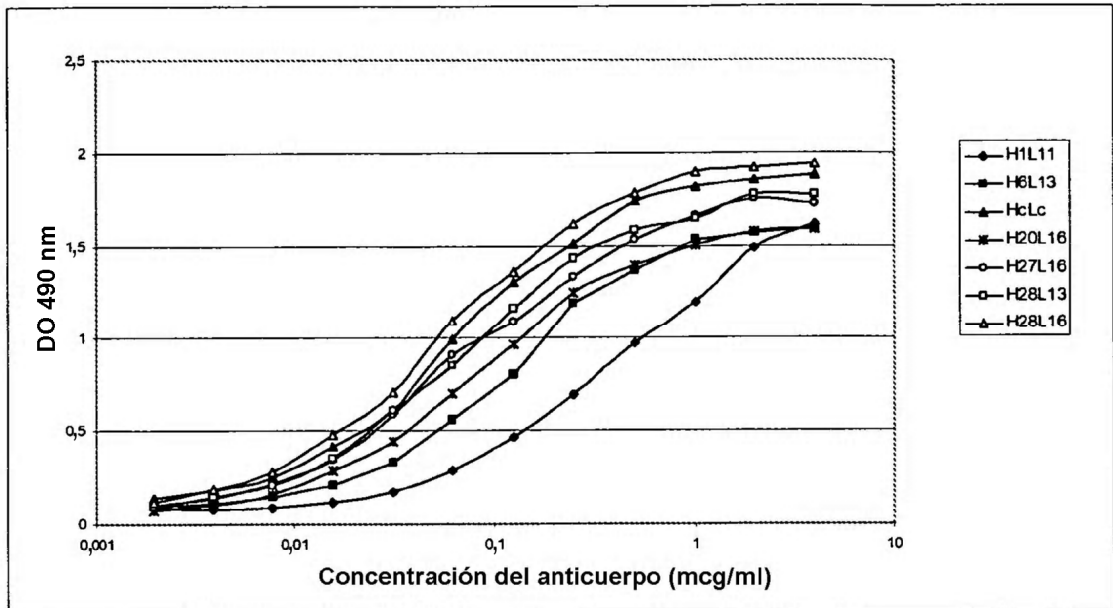


Figura 2: NOGO – A56 humana –GST revestida a 0,05 mcg/ml. Anticuerpos purificados en ELISA

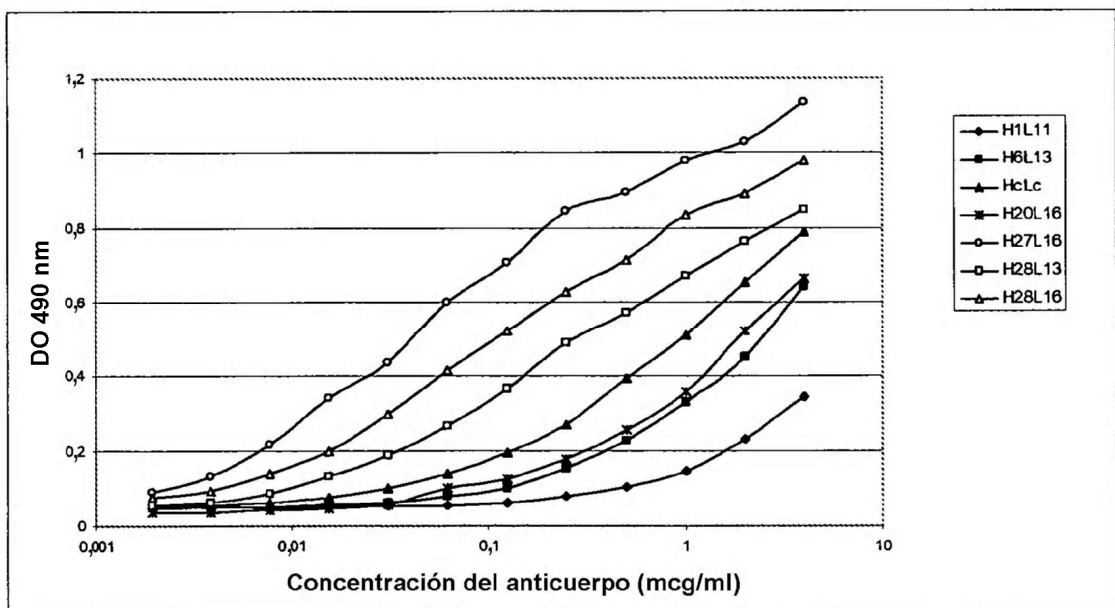


Figura 3: *NOGO – A56 humana –GST revestida a 1,0 mcg/ml. Anticuerpos purificados en ELISA*

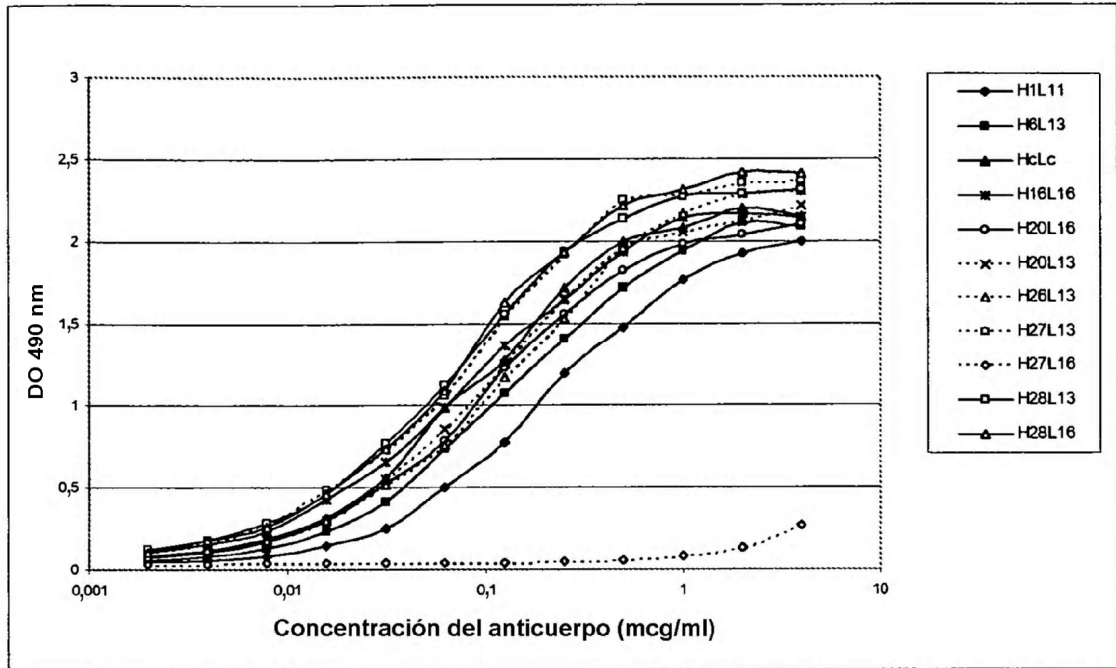


Figura 4: *NOGO – A56 humana –GST revestida a 0,05 mcg/ml. Anticuerpos purificados en ELISA*

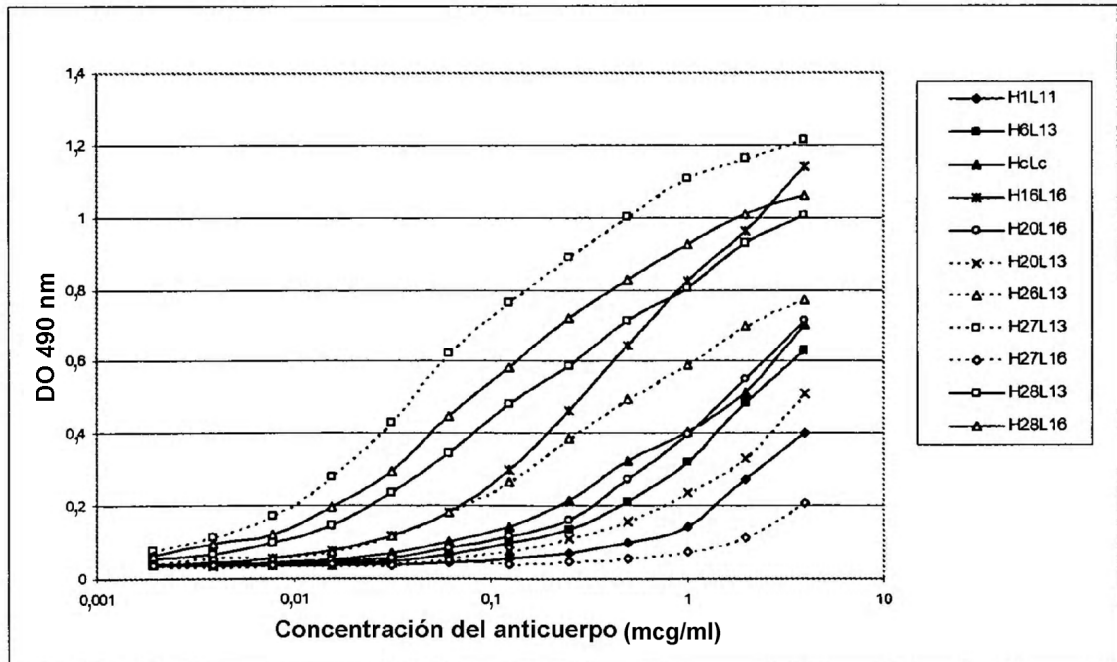


Figura 5

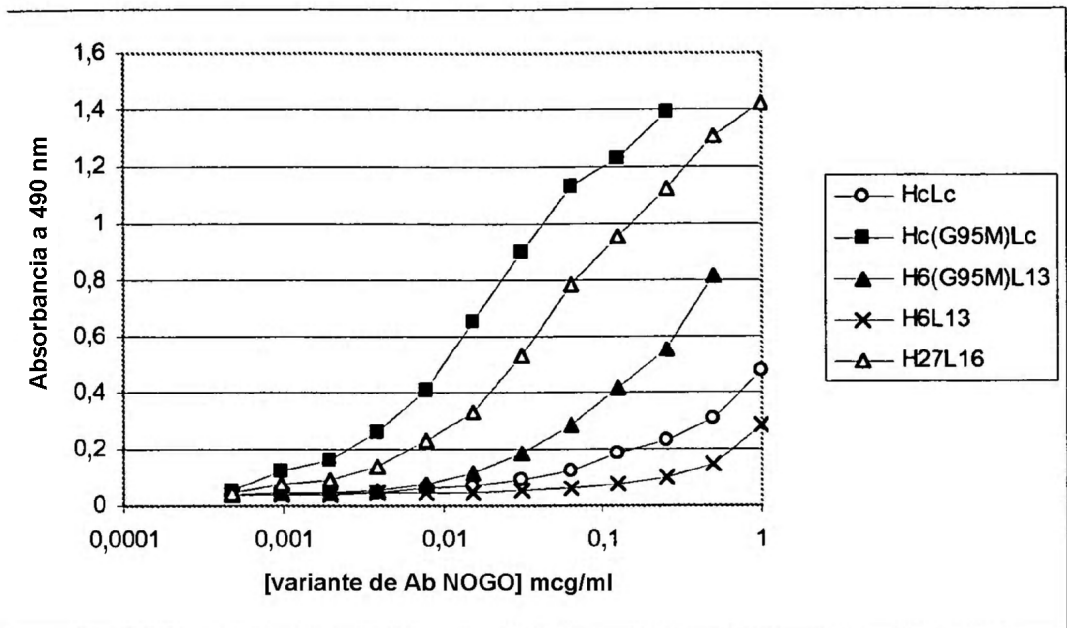


Figura 6

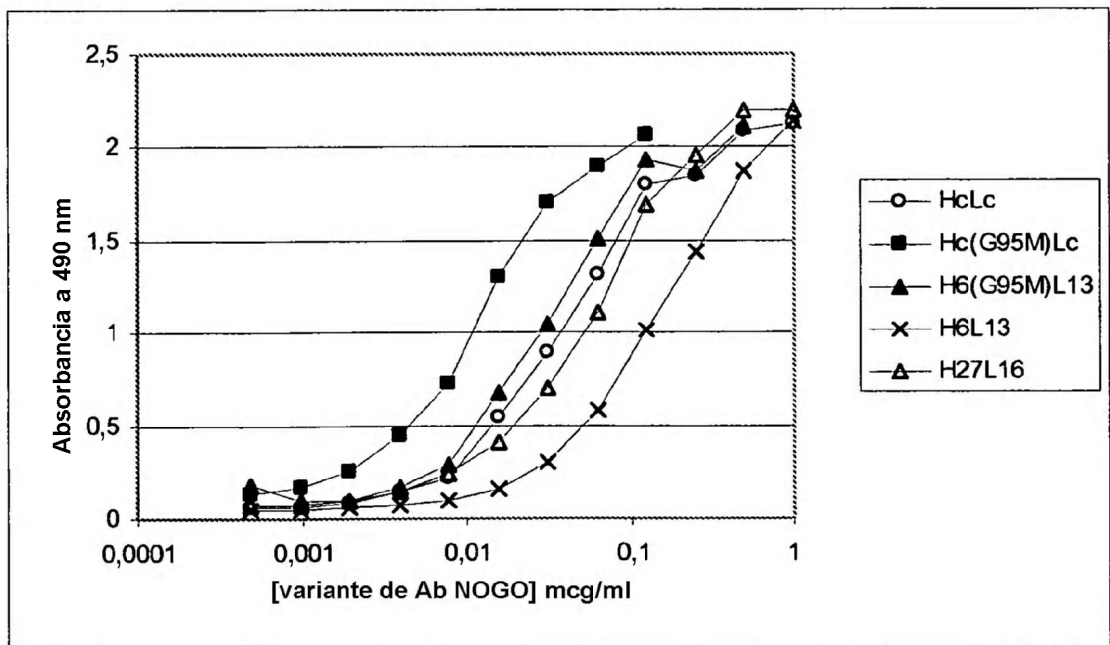


Figura 7: Variantes del grupo 1

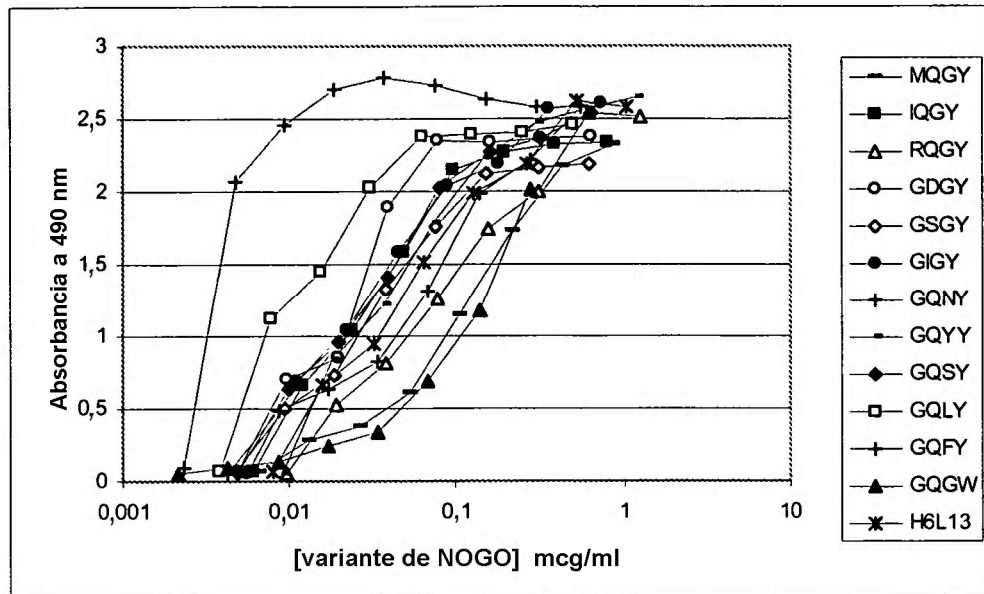


Figura 8: Variantes del grupo 2

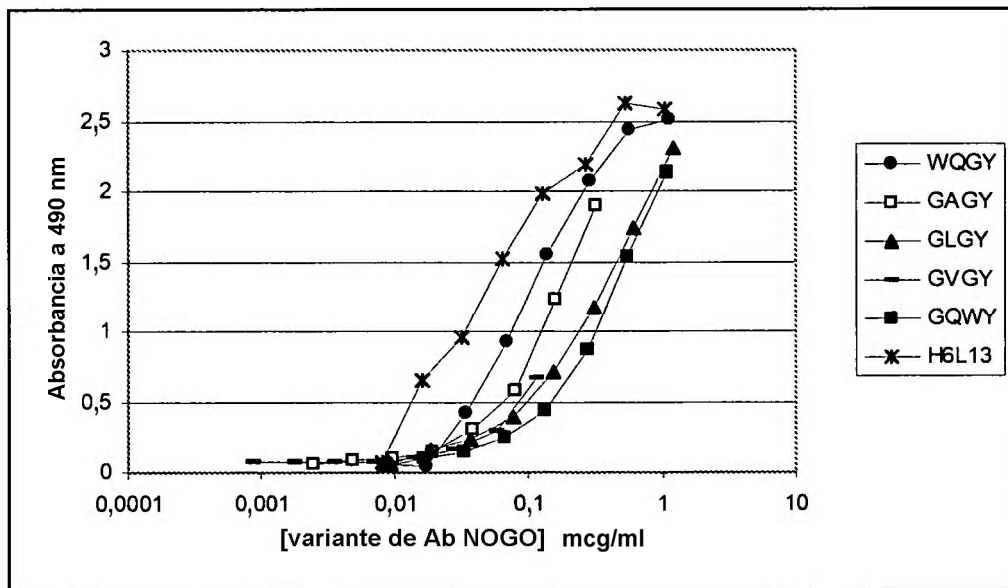
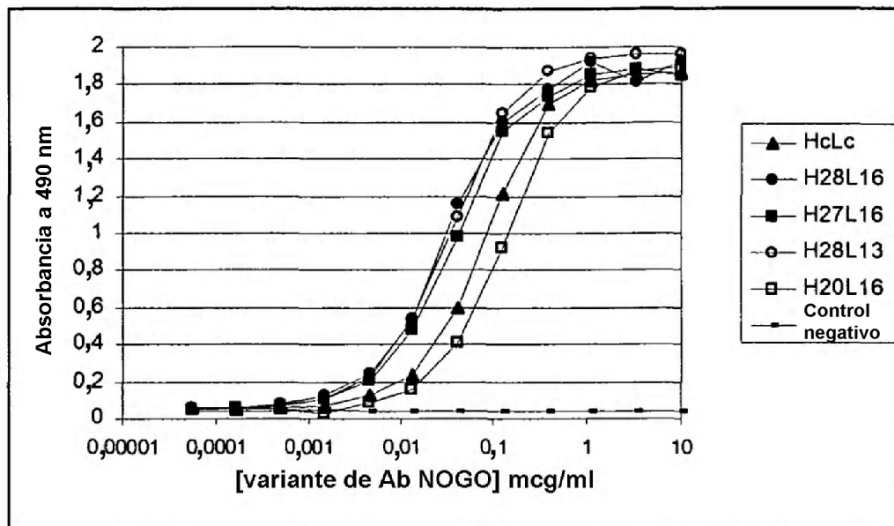


Figura 9: ELISA de unión directa de los anticuerpos del grupo pre-candidato a la NOGO-A humana recombinante (NOGO-A 5+6-GST). La Nogo-A- 5+6-GST recombinante se revistió sobre las placas A) 1,0 mcg/ml y B) a 0,05 mcg/ml. La unión de los anticuerpos se detectó usando un anti-IgG humana conjugado con HRP (Sigma, N° A7340X). El control negativo fue un anticuerpo anti β -amiloide (H2L1). Los valores CE50 se obtuvieron usando el programa Robosage. Cada uno de los gráficos mostrados a continuación muestra una figura representativa de tres ensayos independientes.

A



B

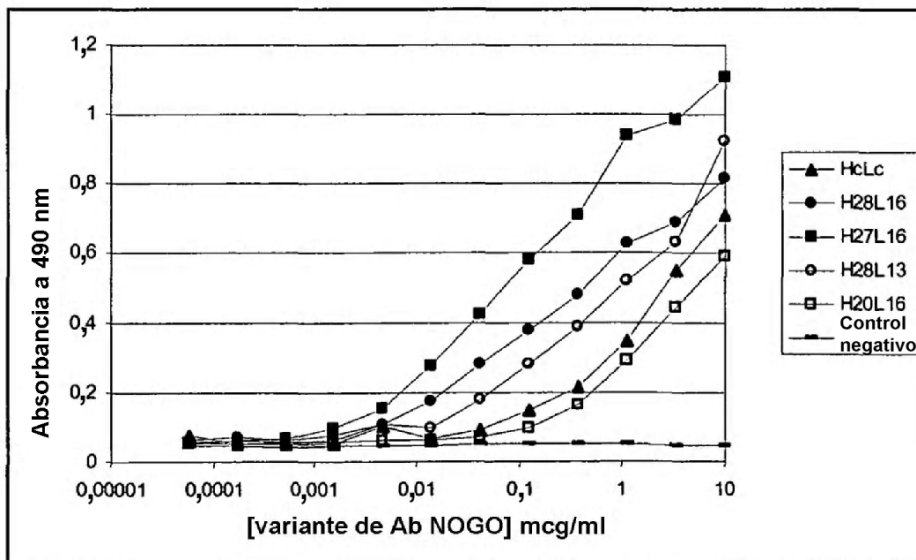


Figura 10: ELISA de unión en formato inverso de los anticuerpos del grupo pre-candidato a la Nogo-A humana recombinante (Nogo-A 5+6-GST). Los anticuerpos anti-Nogo-A se capturaron con anti-IgG humana (Sigma, N° 9764). La unión de la Nogo-A 5+6 GST recombinante se detectó usando un anti-GST conjugado con HRP (Sigma N° A7340). El control negativo fue un anticuerpo irrelevante. Los valores CE50 se obtuvieron usando el programa Robosage. El siguiente gráfico muestra una figura representativa de tres ensayos diferentes.

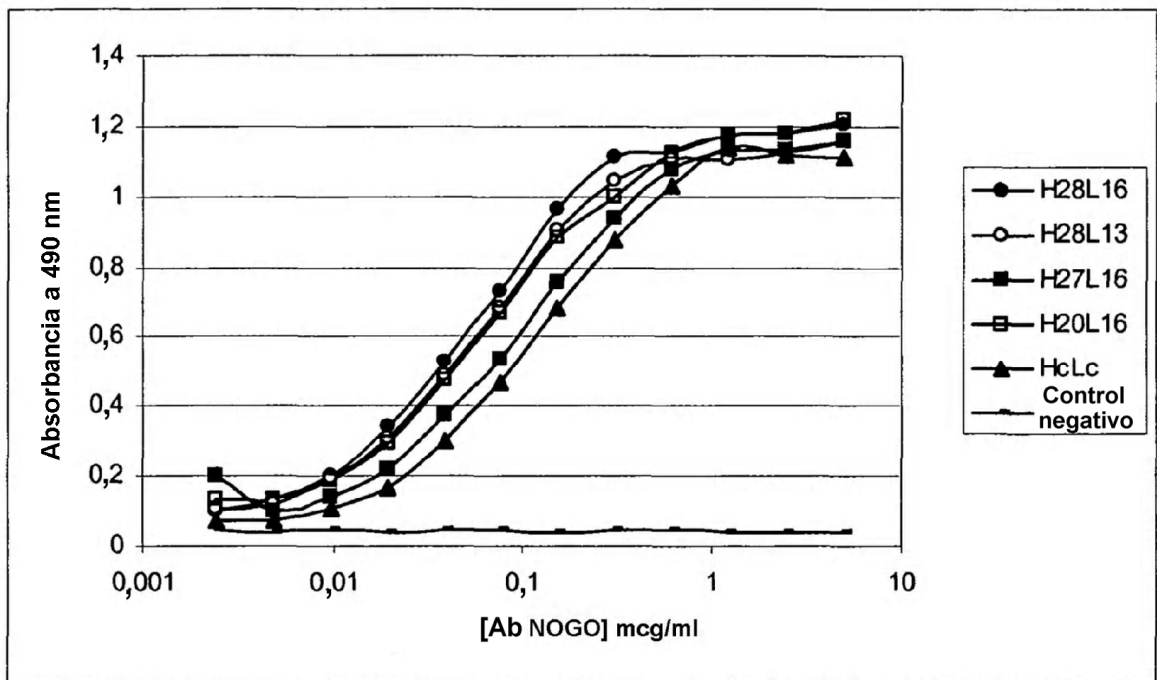


Figura 11: ELISA competitivo de los anticuerpos del grupo pre-candidato con el anticuerpo 2A10 parental. La Nogo-a humana recombinante (Nogo-A 5+6 – GST) se revistió sobre las placas. Los anticuerpos 2A10 y los humanizados se mezclaron previamente y la unión de 2A10 se determinó usando un anti-IgG de ratón conjugado con HRP (Dakocytomation, N° P0260). El control positivo fue HcLc. Los valores CI50 se obtuvieron usando el programa Robosage. El siguiente gráfico muestra una figura representativa de tres ensayos independientes.

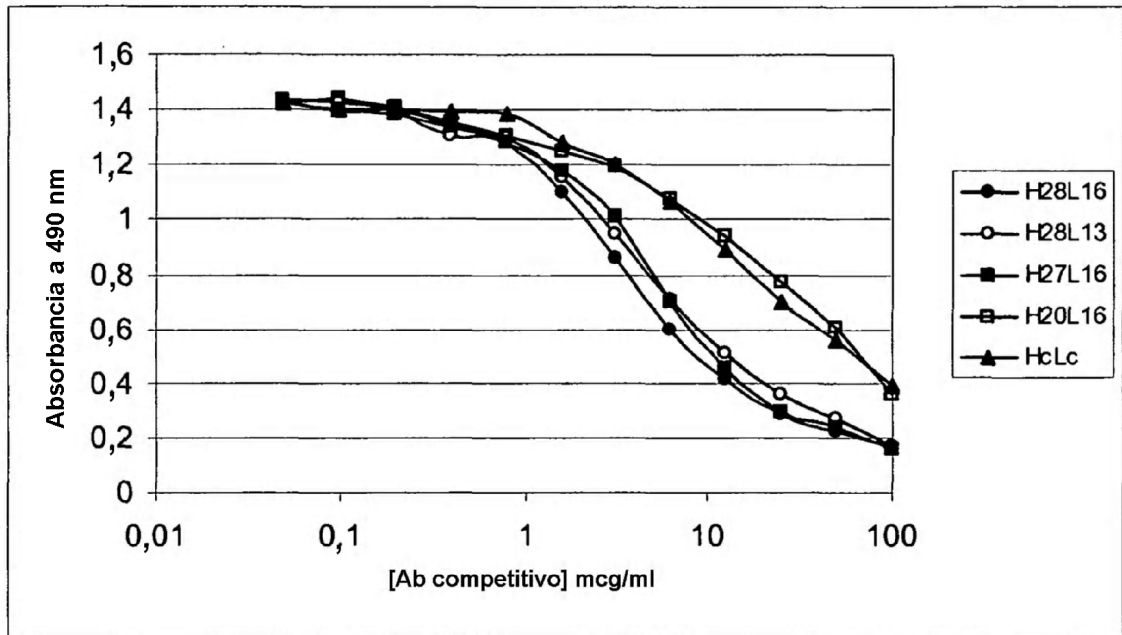


Figura 12: Unión de los anticuerpos anti-Nogo-A humanizados a la Nogo A humana expresada en la superficie celular. Se modificaron células CHO-K1 por ingeniería genética para expresar la Nogo-A. Las células se tiñeron por duplicado con 100 mcg/ml de los anticuerpos anti-Nogo A humanizados seguido de una dilución 1:100 del anti-IgG humana secundario marcado con PE (Sigma nº P8047). Como control negativo se incluyó un anticuerpo irrelevante. Los datos mostrados son un ejemplo representativo de uno de los duplicados.

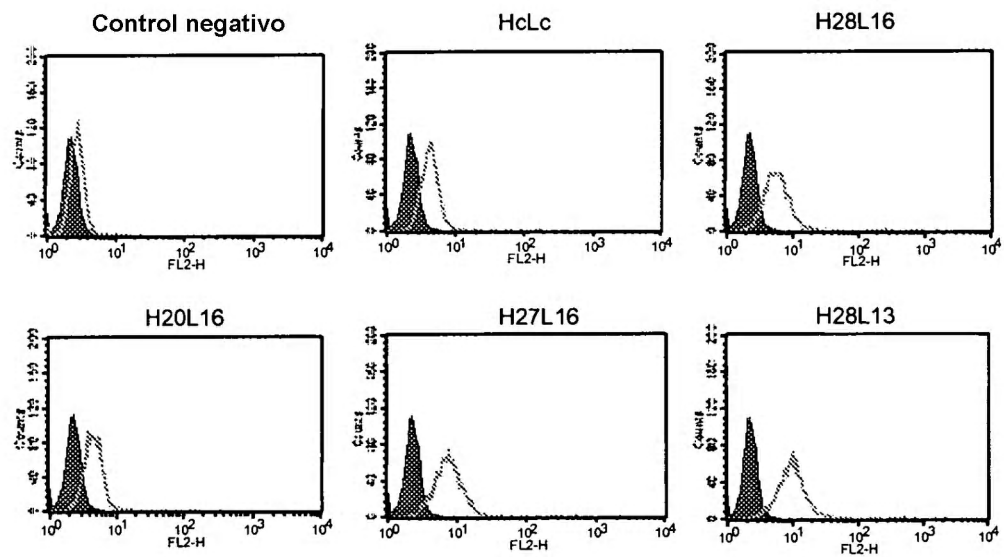


Figura 13: Unión de los anticuerpos anti-Nogo-A humanizados a la Nogo-A humana celular. Las células IMR32 se hicieron permeables, se fijaron y se tiñeron con 3-90 mcg/ml de los anticuerpos anti-Nogo-A humanizados seguido de 30 mcg/ml del anti-IgG humana secundario marcado con PE (Sigma nº P-9047). Como control negativo se incluyó un anticuerpo irrelevante (Ab – ve). Los datos mostrados a continuación son representativos de tres experimentos independientes.

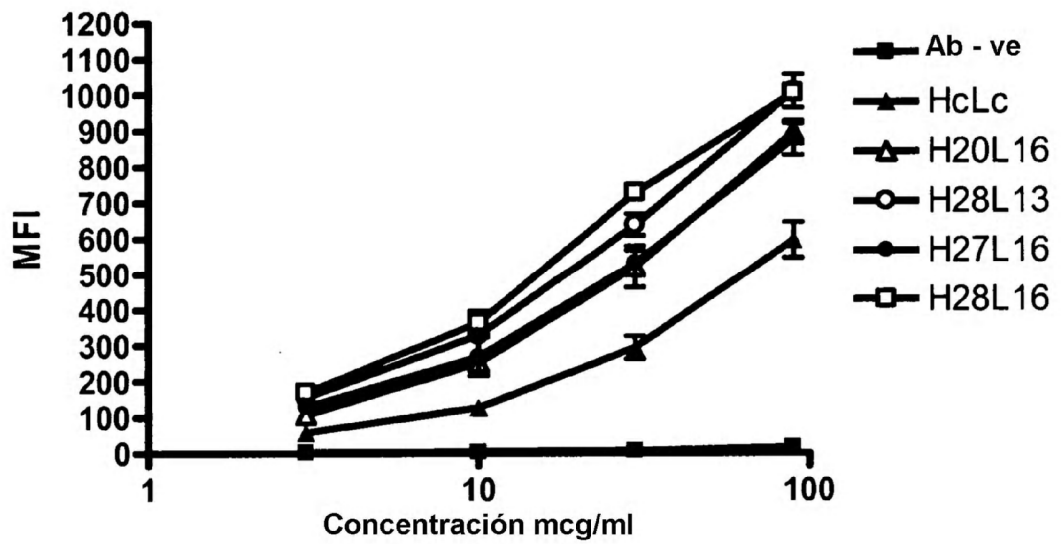


Figura 14: Comparación de anticuerpos anti-Nogo-A humanizados en el ensayo de crecimiento neurítico. Se compararon H28L16, H27L16 y H20L16 con los anticuerpos parentales (2A10, HcLc), con el anticuerpo 11C7 y con diversos anticuerpos de control (IgG y Campath de control). Solo se observó crecimiento neurítico aumentado con los anticuerpos anti-Nogo A. Los efectos fueron dependientes de la dosis y estadísticamente significativos.

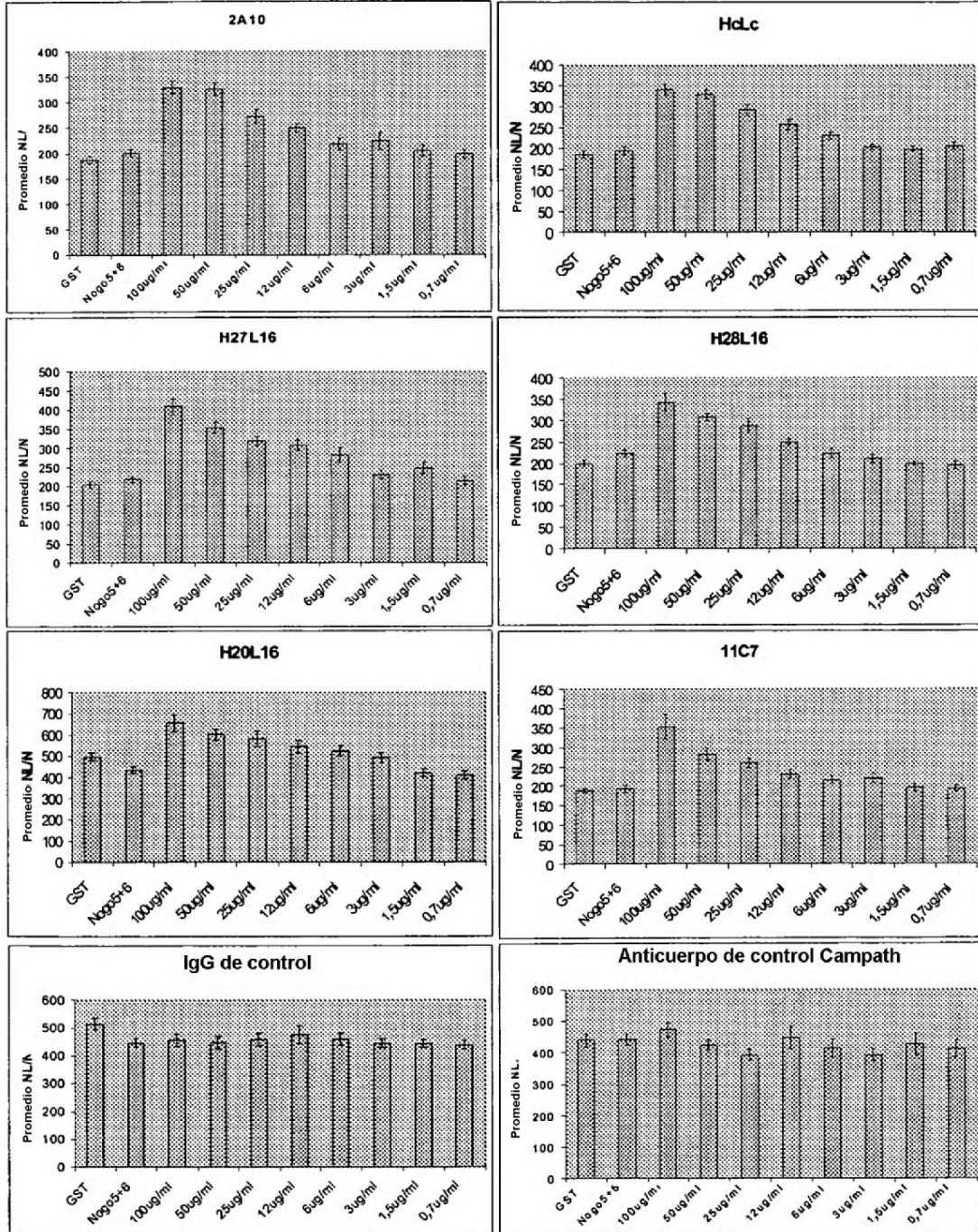


Figura 15: ELISA de unión directo de H28L16 al corte y empalme de la Nogo A humana recombinante de longitud completa (Nogo-A-GST Biocat 113015). El corte y empalme de la Nogo-A recombinante se revistió sobre las placas a 1,0 mcg/ml. La unión de los anticuerpos se detectó usando un anti-IgG humana conjugado con HRP (Sigma nº A7340X). El control negativo fue un anticuerpo anti- β -amiloide. Los valores CE50 se obtuvieron usando el programa Robosage. El siguiente gráfico muestra una figura representativa de dos ensayos independientes.

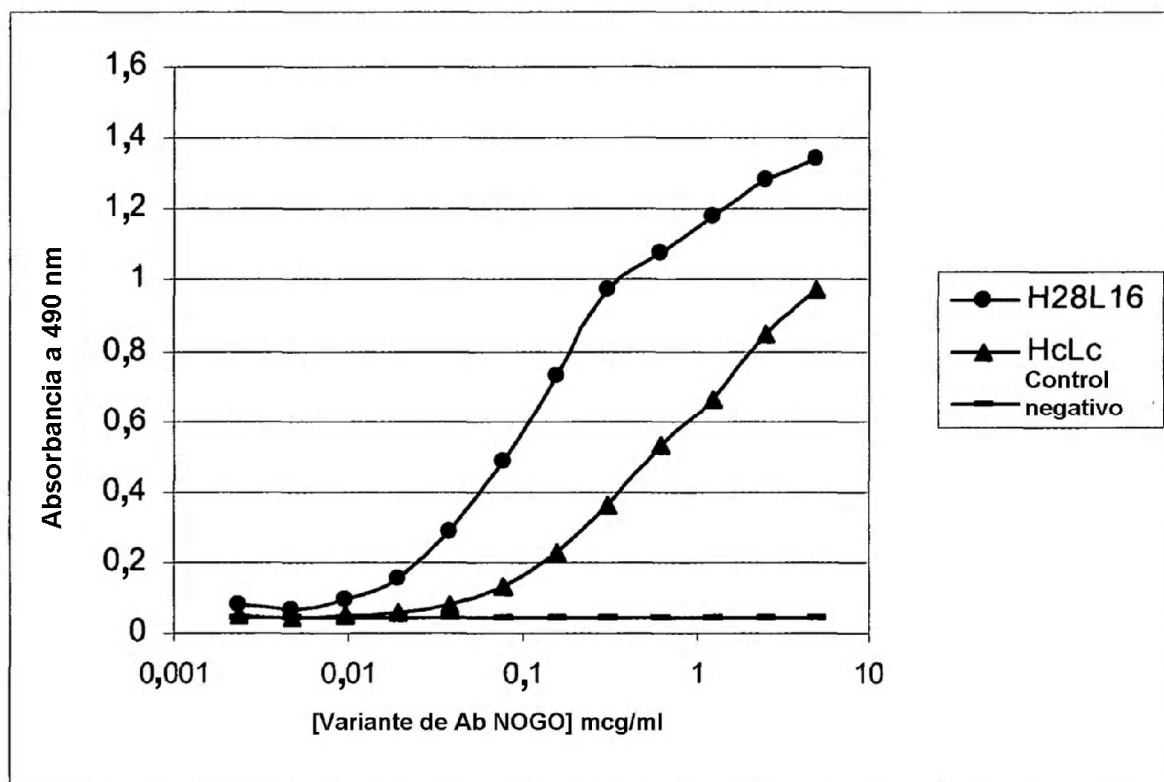


Figura 16: H28L16 muestra unión a C1q reducida. Se revistieron placas del ensayo ELISA con una concentración fija de los anticuerpos purificados humanizados y de control (1 mcg/ml). La C1q humana (Sigma, C0660) se incubó con los anticuerpos y la unión a C1q se cuantificó usando un anti-C1q humana conjugado con HRP (El sitio de unión, PP020X). Los anticuerpos de control fueron Campath IgG1, Campath IgG4 y Campath IgG1 Fc-.

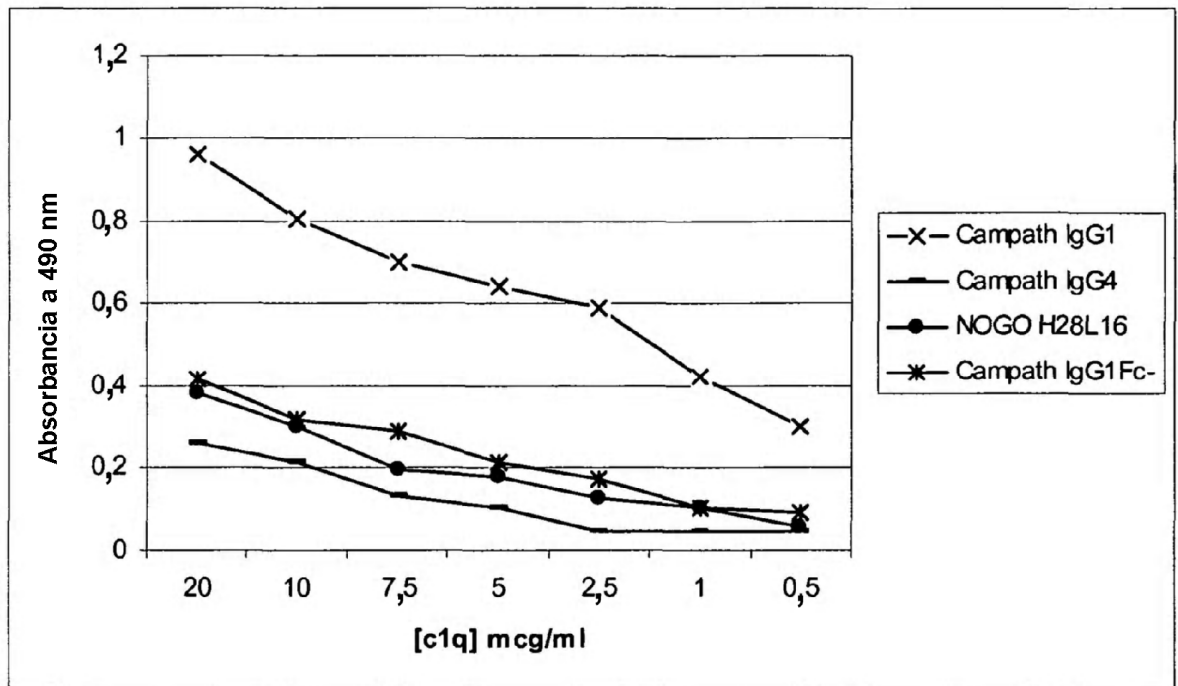


Figura 17: ELISA de unión directo de H28L16, HcLc y 11C7 a la Nogo-A56-GST de A) rata B) mono cinomolgo, C) mono titi y D) mono ardilla. Como referencia se incluyó HcLc. Como control negativo se usó un anticuerpo irrelevante. Los siguientes gráficos muestran una figura representativa de tres ensayos independientes.

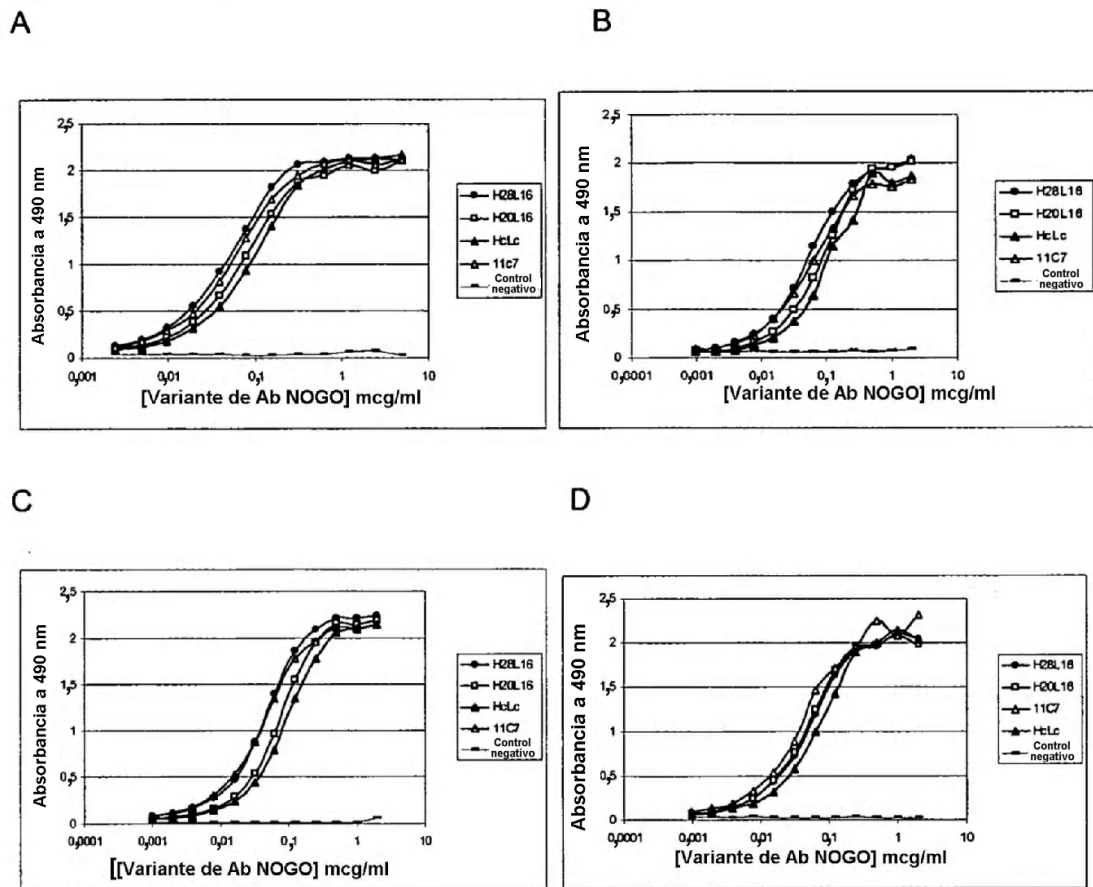


Figura 18: ELISA competitivo para comparar la unión de los epítopes de H28L16 y 11C7. Las placas se revistieron con Nogo-A humana recombinante (Nogo-A 5+6-GST). El anticuerpo 2A10 y 11C7 o H28L16 se mezclaron previamente y la unión de 2A10 se determinó usando un anti-IgG de ratón conjugado con HRP (Dakocytomation, nº P0260). Los valores CI50 se obtuvieron usando el programa Robosage. El siguiente gráfico muestra una figura representativa de tres ensayos independientes.

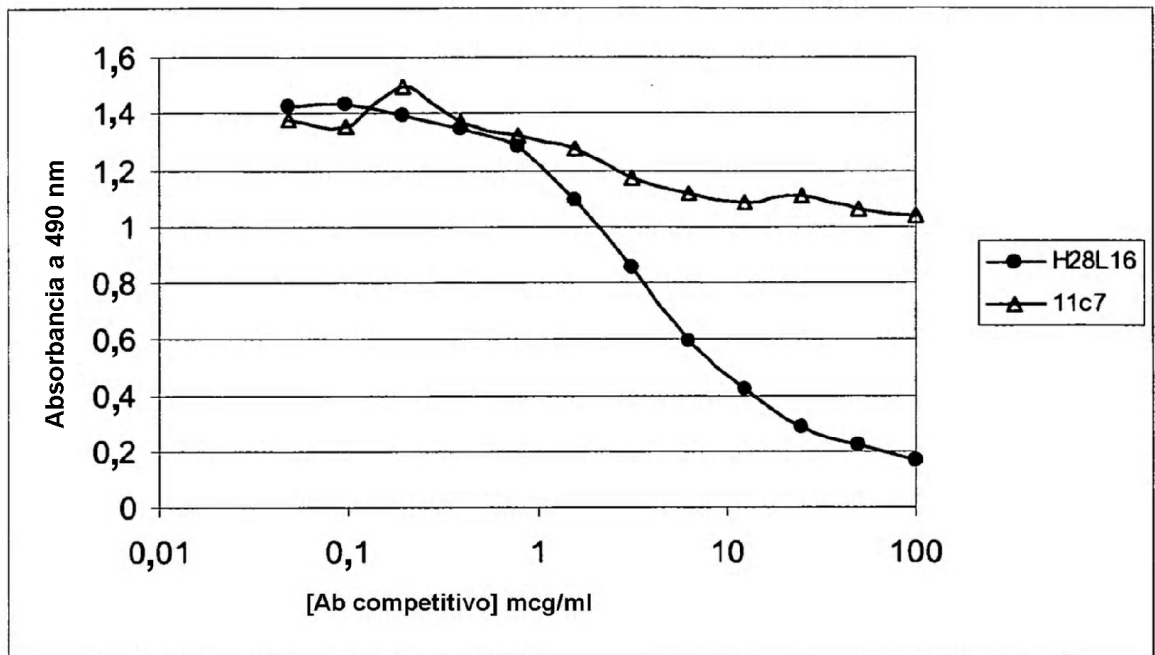


Figura 19: ELISA competitivo para comparar la unión de NOGO-5+6 (Nogo-A 5+6-GST) y fragmentos peptídicos a H28L16. El siguiente gráfico muestra una figura representativa de dos ensayos independientes.

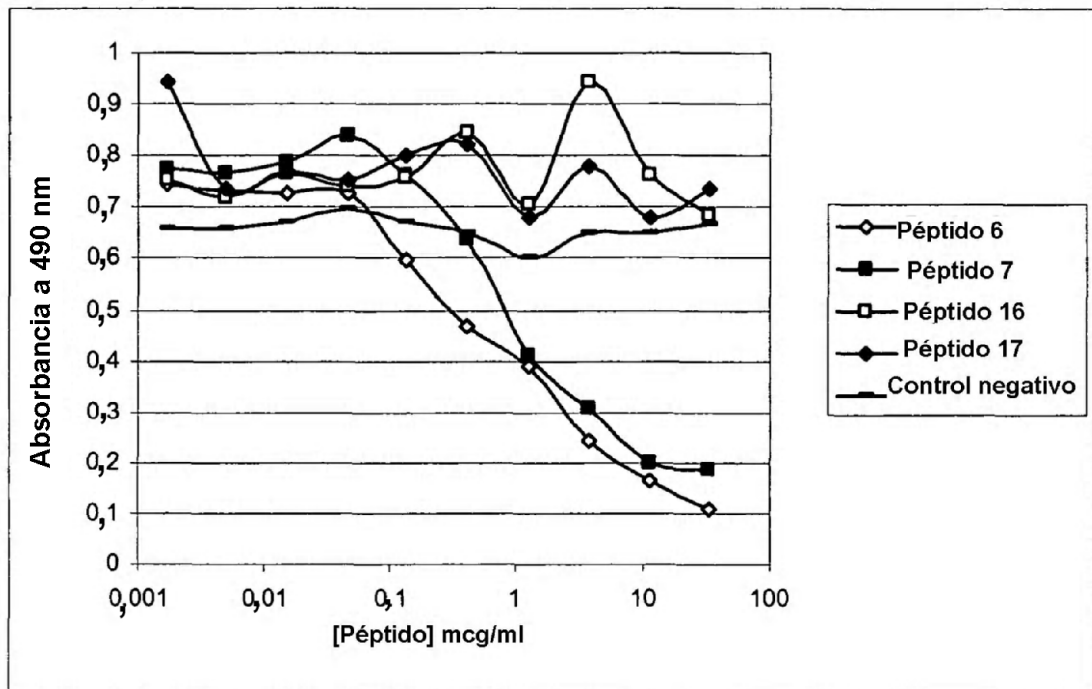


Figura 20: Datos del ensayo ELISA para las variantes G101S/Q37R en comparación con H6L13 y H27L16.

