

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 391 902**

51 Int. Cl.:
C07K 16/22 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 19/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06776123 .9**
96 Fecha de presentación: **03.07.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1899377**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **19.03.2008**

54 Título: **Anticuerpos humanizados específicos para NOGO-A y sus usos farmacéuticos**

30 Prioridad:
05.07.2005 GB 0513766
14.12.2005 GB 0525448

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
30.11.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
30.11.2012

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

72 Inventor/es:
ELLIS, JONATHAN HENRY;
HAMBLIN, PAUL ANDREW;
HUSSAIN, FARHANA;
LEWIS, ALAN PETER;
MCADAM, RUTH;
PRINJHA, RABINDER y
WILSON, PAUL

74 Agente/Representante:
CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 391 902 T3

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

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos humanizados específicos para NOGO-A y sus usos farmacéuticos

Campo de la Invención

5 La presente invención se refiere a las inmunoglobulinas, particularmente a los anticuerpos que se unen a NOGO y que neutralizan su actividad, a polinucleótidos que codifican tales anticuerpos, a formulaciones farmacéuticas que contienen los anticuerpos y al uso de tales anticuerpos en el tratamiento y/o profilaxis de las enfermedades neurológicas.

Antecedentes de la Invención

10 El infarto cerebral es una causa importante de muerte y discapacidad en el mundo occidental. No existe una terapia aprobada para el tratamiento del infarto cerebral distinto del tejido plasminógeno (t-PA) que se tiene que administrar en las primeras 3 horas del inicio después de una exploración tomográfica por computadora (CT, por sus siglas en inglés) para excluir la existencia de hemorragia. Hasta la fecha la mayoría de los agentes terapéuticos dirigidos hacia el tratamiento del infarto cerebral agudo (es decir neuroprotección), han implicado predominantemente la detección de los receptores de glutamato y sus trayectorias de señalización descendentes conocidas por estar
15 implicadas en la muerte celular aguda. No obstante hasta la fecha estas estrategias han probado no tener éxito en los ensayos clínicos y se asocian frecuentemente a efectos secundarios limitados por la dosis (Hill & Hachinski, *The Lancet*, 352: (suppl III) 10-14 (1998)). Por lo tanto hay una necesidad de nuevos procedimientos dirigidos hacia el mejoramiento de la muerte celular después del detenimiento de flujo sanguíneo. La neuroprotección es la capacidad de un tratamiento para prevenir o mejorar la pérdida de células neuronales en respuesta a un proceso dañino o de
20 enfermedad. Ésta se puede lograr detectando las neuronas directa o indirectamente al prevenir la pérdida de células gliales (incluyendo oligodendrocitos).

Después del inicio del infarto cerebral, un cierto grado de recuperación funcional espontánea se observa en muchos pacientes, sugiriendo que el cerebro tiene la capacidad (aunque limitada) de repararse y/o restaurarse después de la lesión. Los agentes que tienen el potencial de mejorar esta recuperación por lo tanto pueden permitir que la
25 intervención sea hecha mucho más adelante (potencialmente días) después del inicio de la isquemia cerebral. Los agentes que pueden ofrecer la neuroprotección aguda y mejorar la recuperación funcional pueden proporcionar ventajas importantes sobre las estrategias de neuroprotección potenciales actuales.

Actualmente son bien conocidos los mecanismos que causan la recuperación funcional. El brote de axones dañados o no dañados se ha propuesto como un mecanismo posible. Sin embargo, aunque los estudios *in vivo* han mostrado
30 que el tratamiento de la lesión a la médula espinal o infarto cerebral con factores neurotróficos da lugar a la recuperación funcional mejorada y a un grado de brote axonal, éstos no prueban un enlace directo entre el grado de brote axonal y el grado de recuperación funcional (Jakeman, y col. 1998, *Exp. Neurol.* 154: 170-184, Kawamata y col. 1997, *Proc Acad Natl. Sci. E.E.U.U.*, 94:8179-8184, Ribotta, y col. 2000, *J Neurosci.* 20: 5144-5152). Además, el brote axonal requiere una neurona viable. En enfermedades tal como infarto cerebral que se asocia a la muerte celular extensa, el mejoramiento de la recuperación funcional ofrecido por un agente post-infarto dado puede por lo tanto ser a través de mecanismos distintos del brote axonal tal como la diferenciación de las células madre endógenas, la activación de las trayectorias redundantes, los cambios de la distribución del receptor o la excitabilidad de la neuronas o glias (Fawcett & Asher, 1999, *Brain Res. Bulletin*, 49: 377-391, Homer & Galga, 2000, *Nature* 407 963-970).

40 La capacidad limitada del sistema nervioso central (CNS) de repararse después de la lesión se puede deber a las moléculas dentro del ambiente del CNS que tienen un efecto inhibitor sobre el brote axonal (excrecencia del exsón) tal como la proteína NOGO de mielina (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; 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; US005250414A; WO200005364A1; WO0031235).

Se han identificado tres formas de NOGO humana: residuos 1192 de aminoácido que tienen NOGO-A (Acceso GenBank No. AJ251383); NOGO-B, una variante de unión que carece de los residuos 186 a 1004 en el dominio extracelular putativo (Acceso GenBank No. AJ251384) y una variante más corta de unión, NOGO-C, que también carece de los residuos 186 a 1004 y también tiene un dominio terminal amino alternativo más pequeño (Acceso GenBank No. AJ251385) (Prinjha y col. (2000) *supra*).

La inhibición de las proteínas inhibitoras del CNS tal como NOGO puede proporcionar medios terapéuticos para mejorar el daño neuronal y promover la reparación y crecimiento neuronal, de tal modo ayudan potencialmente a la recuperación de la lesión neuronal tal como la mantenida en el infarto cerebral. Los ejemplos de tales inhibidores de
55 NOGO pueden incluir moléculas pequeñas, péptidos y anticuerpos.

Los anticuerpos comprenden comúnmente dos cadenas pesadas ligadas juntas por los enlaces disulfuro y dos cadenas ligeras. Cada de cadena ligero es ligada a una cadena pesada respectiva por enlaces disulfuro. Cada

cadena pesada tiene en un extremo un dominio variable seguido por un número de dominios constantes. Cada cadena ligera tiene un dominio variable en un extremo y un dominio constante en su otro extremo. El dominio variable de cadena ligera se alinea con el dominio variable de la cadena pesada. El dominio constante de cadena ligera se alinea con el primer dominio constante de la cadena pesada. Los dominios constantes en las cadenas ligeras y pesadas no están implicados directamente en la unión del anticuerpo al antígeno.

Los dominios variables de cada par de cadenas ligeras y pesadas forman el sitio de unión de antígeno. Los dominios variables en las cadenas ligeras y pesadas tienen la misma estructura general y cada dominio comprende cuatro regiones de la estructura, cuyas secuencias se conservan relativamente, conectadas por tres regiones de determinación de complementariedad (CDRs) designadas frecuentemente como regiones hipervariables. Las cuatro regiones de la estructura adoptan en gran parte un orden de lámina beta y las CDRs forman bucles conectados, y en algunos casos forman parte de la estructura de lámina beta. Las CDRs son mantenidas en proximidad cercana por las regiones de la estructura y, con las CDRs del otro dominio, contribuyen a la formación del sitio de unión de antígeno. Las CDRs y las regiones de estructura de los anticuerpos se pueden determinar por referencia a Kabat y col. ("Sequences of proteins of immunological interest" US Dept. of Health and Human Services, US Government Printing Office, 1987).

Se ha informado que un anticuerpo monoclonal de murino, IN-1, que fue producido contra NI-220/250, una proteína de mielina que es un inhibidor potente del crecimiento de exsón (y mostrada posteriormente como 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). También se ha informado que NOGO-A es el objetivo de IN-1 (Chen y col. (2000) Nature 403 434-439). La administración del fragmento IN-1 Fab o IN-1 humanizado a las ratas que han experimentado el corte transversal de la médula espinal, mejoró la recuperación (Fiedler, M y col. (2002) Protein Eng 15 931-941; Brosamle, C y col. (2000) J. Neuroscience 20 8061-8068).

Los anticuerpos monoclonales que se unen a NOGO se describen en los documentos WO 04/052932 y WO2005028508. El documento WO 04/052932 divulga un anticuerpo de murino 11 C7 que se une a ciertas formas de NOGO humana con alta afinidad.

Es deseable aislar y desarrollar los anticuerpos monoclonales terapéuticamente útiles adicionales que se unen a, e inhiben la actividad de, NOGO humana. El proceso de la neurodegeneración es la base de muchas enfermedades/trastornos neurológicos incluyendo, pero sin limitarse a, enfermedades agudas tal como infarto cerebral (isquémico o hemorrágico), lesión cerebral traumática y lesión de la médula espinal así como enfermedades crónicas que incluyen la enfermedad de Alzheimer, demencias frontotemporales (tauopatías), neuropatía periférica, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD), esquizofrenia, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), esclerosis múltiple, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple y miositosis de inclusión corporal. Por lo tanto un anticuerpo monoclonal anti-NOGO puede ser útil en el tratamiento de estas enfermedades/trastornos. Tales anticuerpos para el tratamiento de la enfermedad/trastorno anterior son proporcionados por la presente invención y se describen con más detalle posteriormente.

El documento WO 2005/061544 divulga los anticuerpos monoclonales de alta afinidad, incluyendo un anticuerpo monoclonal de murino 2A10, y una variante humanizada del mismo H1 L11.

Breve Descripción de la Invención

La presente invención proporciona un número de anticuerpos monoclonales que se unen a una NOGO humana. La presente solicitud hace referencia a muchas SEC ID NOS, que se presentan brevemente en la tabla 12, con las secuencias después de la tabla al final de este documento.

El anticuerpo de murino 2A10 se une a NOGO humana con alta afinidad, y se une a la forma de NOGO que es expresada por las líneas celulares humanas con alta afinidad. 2A10 se ha humanizado con éxito en el pasado (H1 L11 que comprende la región variable de cadena pesada H1 (SEC ID NO. 77) y la región variable de cadena ligera L11 (SEC ID NO. 78)). La presente invención proporciona los anticuerpos monoclonales humanizados adicionales que conservan una porción grande de la afinidad de, o tienen afinidad equivalente a, el anticuerpo de donador (2A10) a NOGO humana. En particular los anticuerpos de la presente invención tienen un alto grado de unión a NOGO humana en forma recombinante según lo expresado en las células bacterianas (tal como E. Coli), y también en la forma que es expresada por una línea celular humana del neuroblastoma (por ejemplo la línea celular humana del neuroblastoma IMR32).

A objeto de proporcionar las variantes humanizadas 2A10, los presentes inventores han identificado un número de residuos de aminoácidos esenciales en la secuencia de la estructura de las regiones variables 2A10 que se creen que son importantes en la retención óptima de la afinidad de unión a la NOGO humana. La región variable de cadena pesada 2A10 (VH) se proporciona en la SEC ID NO. 7; la región variable de cadena ligera 2A10 (VL) se proporciona en la SEC ID NO. 8. Las cadenas pesadas y ligeras químicas que comprenden las regiones variables de murino y las regiones constantes humanas se proporcionan en las SEC ID NOS 9 y 10 respectivamente (la combinación de las dos cadenas químicas es llamada HcLc). El lector experto entenderá que las SEC ID NOS 9 y

10 representan las cadenas pesadas o las cadenas ligeras antes de cualquier procesamiento (por ejemplo el procesamiento mediado por la célula huésped) para la eliminación de una secuencia señal. Comúnmente las formas procesadas de las cadenas de anticuerpo comenzarán en la posición 20 (después de la eliminación de la secuencia señal) para la SEC ID NO. 9; y comenzará en la posición 21 para la SEC ID NO. 10. Dentro del contexto de la presente invención todas las secuencias de cadena pesada y ligera integrales serán proporcionadas con la secuencia señal incluida (que para el resto de las secuencias integrales, que no son SEC ID NOS 9 y 10, corresponde a la SEC ID NO.75). Será evidente al experto que el anticuerpo producido por una línea celular transfectada con un gene que codificaba cualquiera de estas cadenas pesadas y ligeras integrales, no debe comprender esta secuencia señal.

10 Tabla 1, las CDRs de la cadena pesada 2A10 son:

CDR	De acuerdo con Kabat
H1	SYWMH (SEC ID NO: 1)
H2	NINPSNGGTNYNEKFKS (SEC ID NO: 2)
H3	GQGY (SEC ID NO: 3)

Tabla 2, las CDRs de la cadena ligera 2A10

CDR	De acuerdo con Kabat
L1	RSSKSLLYKDGKTY (SEC ID NO: 4)
L2	LMSTRAS (SEC ID NO: 5)
L3	QQLVEYPLT (SEC ID NO: 6)

15 Las CDRs fueron identificadas de acuerdo a Kabat (Kabat y col. (1991) "Sequences of preteins of immunological interest"; Fifth Edition; US Department of Health and Human Services; Publicación NIH No. 91-3242). Las CDRs preferiblemente son según lo definido por Kabat pero siguiendo los principios de la estructura y el pliegue de la proteína según lo definido por Chothia y Lesk, (Chothia y col., (1989) "Conformations of immunoglobulin hypervariable regions"; Nature 342, p877-883) será apreciado que los residuos adicionales también se puedan considerar como parte de la región de unión de antígeno y que así sean comprendidos por la presente invención.

20 H1 y L11 de los dominios de VH y VL se han descrito previamente en el documentos WO 2005/061544 y son un resultado de las CDRs mencionada en las tablas 1 y 2 que son injertadas en las regiones variables humanas con alta homología al anticuerpo de donador 2A10, cada constructo injertado que comprende adicionalmente las mutaciones anteriores en las posiciones de Kabat 93 y 94 (para H1 VH) o 4, 45 y 46 (para L11 VL).

25 El anticuerpo 2A10 es capaz de unirse a NOGO humana, y también de unirse a NOGO de mono tití y rata, y se cree que los nuevos anticuerpos humanizados de la presente invención conservarán tal característica. Por ejemplo un anticuerpo monoclonal que comprende las regiones variables H20 y L16 (ver abajo para detalles) a NOGO de mono tití así como a NOGO de rata, NOGO de Cynomolgus y de mono ardilla. La secuencia del fragmento de NOGO-A de mono tití se da en la SEC ID NO. 113.

30 Los anticuerpos que comprenden las CDRs en la tabla 1 y 2 son proporcionados por la presente invención. Los anticuerpos que comprenden los análogos de estas CDRs también están comprendidos dentro de la presente invención.

En un primer aspecto, la invención proporciona un anticuerpo humanizado como se reivindica en la reivindicación 1.

35 A menos que se indique específicamente lo contrario, cuando una posición numérica de un residuo de aminoácido encontrado dentro de una secuencia específica se menciona en este documento, por ejemplo "posición 12", se desea que el experto asigne al primer aminoácido en la secuencia la posición "1" y cuente a partir de la posición uno e identifique el aminoácido que está en la posición deseada, en este ejemplo el duodécimo residuo de aminoácido

en la secuencia. El experto notará que este sistema de numeración no corresponde al sistema de numeración de Kabat que se utiliza frecuentemente para las posiciones de aminoácido dentro de las secuencias del anticuerpo. La siguiente tabla (la tabla 3) ilustra las sustituciones/mutaciones inversas de la presente invención y proporciona sus posiciones numéricas y el número de Kabat para tal posición numérica:

5

Tabla 3

Residuo de estructura humana de H1 (SEC ID NO: 77)	Posición numérica	Número de Kabat de la posición numérica	Residuo correspondiente en murino 2A10 (SEC ID NO: 7)
K	12	12	V
V	20	20	L
R	38	38	K
A	40	40	R
M	48	48	I
R	67	66	K
V	68	67	A
M	70	69	L
R	72	71	V
T	74	73	K
T	76	75	S
V	79	78	A
T	91	87	S

La siguiente tabla incluye los detalles de 20 diferentes regiones variables de cadena pesadas (VH) que pueden formar parte de los anticuerpos de la presente invención. Cada una de VH descrita se basa en H1 VH (SEC ID NO. 77) que comprende adicionalmente las sustituciones mencionadas en la tabla (tabla 4) donde el residuo H1 en la posición relevante es sustituido con el residuo 2A10 en tal posición (en la tabla, "-" significa medios que no existe sustitución en tal posición, y así el residuo permanece como en la secuencia de H1):

10

Tabla 4

Nueva VH (SEC ID NO: X)	Residuo numérico No.	12	20	38	40	48	67	68	70	72	74	76	79	91
	Kabat No.	12	20	38	40	48	66	67	69	71	73	75	78	87
	2A10	V	L	K	R	I	K	A	L	V	K	S	A	S
	H1	K	K	R	A	M	R	M	M	R	T	T	V	T
H5 (11)		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-
H6 (12)		-	-	-	-	I	-	A	-	-	-	-	A	-
H7 (13)		-	-	-	-	I	-	A	L	V	K	-	A	-
H8		-	-	-	-	I	-	A	L	V	-	-	A	-
H9		-	L	-	-	I	-	A	L	V	K	-	A	-
H10		-	L	K	-	I	-	A	L	V	K	-	A	-
H12		-	-	-	-	I	-	A	L	-	K	-	-	-
H13		-	-	-	-	I	-	A	-	V	-	-	A	-
H14 (14)		V	L	K	-	I	-	A	L	-	-	-	A	-
H15 (15)		V	L	K	R	I	K	A	L	V	-	S	A	S
H16 (16)		-	-	K	R	I	K	A	L	V	K	-	A	-
H17 (17)		V	L	K	R	I	K	A	L	V	K	-	A	-
H18 (18)		V	L	K	R	I	K	A	L	V	K	S	A	S
H19 (85)		-	-	-	R	I	-	A	-	-	-	-	A	-
H20 (86)		-	-	-	-	I	K	A	-	-	-	-	A	-
H21 (87)		-	-	-	R	I	K	A	-	-	-	-	A	-
H22 (88)		-	-	K	R	I	K	A	-	-	-	-	A	-
H23 (89)		-	-	K	R	I	K	A	-	V	-	-	A	-
H24 (90)		-	-	K	R	I	K	A	L	V	-	-	A	-
H25 (91)		-	-	-	R	-	-	-	-	-	-	-	A	-

La siguiente tabla (Tabla 5) ilustra las sustituciones/mutaciones inversas de la presente invención y proporciona sus posiciones numéricas y el número de Kabat para tal posición numérica:

Tabla 5

	Residuo de estructura humana de L3 (SEC ID NO: 20)	Posición numérica	Número de Kabat de la posición numérica	Residuo correspondiente en murino 2A10 (SEC ID NO: 8)
5	M	4	4	I
	S	7	7	D
	L	11	11	N
	A	19	19	V
	Q	42	37	L
10	P	64	59	S
	G	70	65	S

La siguiente tabla (tabla 6) incluye los detalles de siete diferentes regiones variables de cadena ligera (VL) que puedan formar parte de los anticuerpos de la presente invención o son variantes de los mismos que comprenden los análogos de las CDRs. Cada una de VL descritas es, o se basa en, los L13 VL (SEC ID NO. 20) además opcionalmente comprenden las sustituciones mencionadas en la tabla donde el residuo L13 en la posición relevante se sustituye con el residuo 2A10 en tal posición (en la tabla, "-" significa medios que no existe una sustitución en tal posición, y así el residuo permanece como en la secuencia de L13):

Tabla 6

Nueva VH (SEC ID NO: X)	Residuo numérico No.	4	7	11	19	42	64	70
	Kabat No.	4	7	11	19	37	59	65
	2A10	I	D	N	V	L	S	S
	L131	M	S	L	A	Q	P	G
25	L11 (78)	I	-	-	-	-	-	-
	L13 (20)	-	-	-	-	-	-	-
	L14 (21)	-	-	-	-	L	-	-
	L15 (22)	-	-	-	-	L	S	-
30	L16 (23)	-	-	N	V	L	-	-
	L17 (24)	-	D	-	-	-	S	S
	L18 (25)	-	D	N	-V	L	S	S

Las realizaciones particulares son anticuerpos que comprenden las siguientes combinaciones de regiones variables de cadena pesadas y ligeras: H20L16 (SEC ID NO: 86 + SEC ID NO: 23), H22L16 (SEC ID NO: 86 + SEC ID NO: 23), H23 L16 (SEC ID NO: 89 + SEC ID NO: 23), H24L16 (SEC ID NO: 90 + SEC ID NO: 23), H23L18 (SEC ID NO: 86 + SEC ID NO: 25), H22L18 (SEC ID NO: 88 + SEC ID NO: 25), H23L18 (SEC ID NO: 89 + SEC ID NO: 25), H24L18 (SEC ID NO: 90 + SEC ID NO: 25). En una realización el anticuerpo comprende H20L16 o una variante de la misma que comprende un análogo de las CDRs natural.

Los anticuerpos humanizados de la presente invención se unen a NOGO humana con una afinidad comparable a la del anticuerpo de donador murino de 2A10 o versión quimérica del mismo (HcLc). En una realización la unión del anticuerpo de la presente invención a NOGO tiene una afinidad constante (KD, según lo medido por las técnicas

BiaCore) dentro de 10 veces la de 2A10, y en otra realización la constante de afinidad está dentro de tres o dos veces la de 2A10, en otra realización la constante de la afinidad no es diferente a la de 2A10 (o 2A10 HcLc). En otra realización la constante de afinidad está dentro de tres o dos veces la de 2A10 y la constante de disociación (kd) está dentro de 10 veces, o tres veces, o dos veces la de 2A10, en otra realización la constante de disociación no es diferente de la de 2A10 (o 2A10 HcLc). El procedimiento de medir la constante de afinidad y la constante de disociación del anticuerpo debe estar claro para el experto, no obstante el procedimiento BiaCore de análisis cinético dado en el ejemplo 5 de este documento es ilustrativo a este respecto. Por ejemplo, la constante de afinidad y la constante de disociación de 2A10 según lo medido por el análisis cinético BiaCore está comúnmente en la región de 1 nM y 1.84×10^{-3} (kd 1/s) respectivamente; en el mismo análisis los anticuerpos de una realización de la presente invención tendrán una constante de afinidad de menos de 8-10 nM y 1.84×10^{-2} . De una manera similar el análisis del anticuerpo quimérico 2A10, HcLc, tendrá una constante de afinidad de aproximadamente 1 a 2 nM y 2×10^{-3} a 4×10^{-3} (kd 1/s) respectivamente.

En las realizaciones comunes, los anticuerpos de la invención son de la clase IgG, más comúnmente IgG1 o IgG4 humana, con una cadena ligera humano de tipo k.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un procedimiento para inhibir la neurodegeneración y/o para promover la recuperación funcional en un paciente humano que padece, o está en riesgo de desarrollar, un infarto cerebral (particularmente infarto cerebral isquémico) u otra enfermedad neurológica, en particular la enfermedad de Alzheimer o esclerosis múltiple, el cual comprende administrar al humano en necesidad del mismo una cantidad efectiva de un anticuerpo anti-NOGO de la invención o un fragmento funcional del mismo.

Los anticuerpos de la presente invención pueden usarse en un procedimiento para inhibir la neurodegeneración y/o para promover la recuperación funcional en un paciente humano que padece, o está en riesgo de desarrollar, un infarto cerebral u otra enfermedad neurológica, en particular la enfermedad de Alzheimer o esclerosis múltiple, que comprende administrar a dicho humano en necesidad una cantidad efectiva de un anticuerpo anti-NOGO de la invención o un fragmento funcional del mismo

Los anticuerpos de la presente invención pueden usarse en un procedimiento de tratamiento, o en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de, una lesión traumática nerviosa, tal como lesión de la médula espinal u otra lesión traumática del sistema nervioso.

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

Los anticuerpos integrales descritos en la presente memoria son los que comprenden las cadenas ligeras de las SEC ID NOS 34-40 y las cadenas pesadas de las SEC ID NOS 92-98; y en particular las cadenas ligeras de las SEC ID NOS 35, 38 ó 40 y las cadenas pesadas de las SEC ID NOS 92, 93, 94 ó 98. Será evidente a los expertos en la técnica que todas las secuencias dadas para las cadenas del anticuerpo integral en la tabla 7 y 12 (y secuencias anexas) representan las cadenas pesadas o cadenas ligeras antes de cualquier procesamiento (por ejemplo procesamiento mediado por la célula huésped) para la eliminación de una secuencia señal. Comúnmente las formas procesadas de las cadenas del anticuerpo comenzarán en la posición 20 (después de la eliminación de la secuencia señal (residuos 1-19) que corresponde a la SEC ID NO. 75). La presente invención proporciona los anticuerpos que tienen las secuencias de polipéptido listadas (después de la eliminación de los primeros 19 aminoácidos de la secuencia señal), y también proporciona los anticuerpos en la forma en la cual se producen y purifican a partir de las células huésped que expresan los polinucleótidos que codifican la cadena pesada y ligera.

Tabla 7, Los anticuerpos integrales específicos incluyen:

Anticuerpo	Cadena ligera	Cadena pesada
H20L 16 FL	SEQ ID NO. 38	SEQ ID NO. 93
H20L 18 FL	SEQ ID NO. 40	SEQ ID NO. 93

En una realización el anticuerpo es H20L16 FL, o una variante del mismo que comprende un análogo de CDR.

En una realización de la presente invención los anticuerpos no son líticos, en que la región constante no son capaces de unirse a un ADCC (anticuerpo dependiente de la toxicidad celular) complementario y/o de mediación. Las regiones constantes de los anticuerpos integrales están por lo tanto basados en los dominios constantes que son naturalmente no líticos, tal como IgG4 humano, o comprenden inactivar las sustituciones en las posiciones 235 y 237 dentro de una región constante de IgG1 humano (véase el documento EP0307434 para más detalles).

Descripción de las Figuras

5 Figura 1A y B, datos de ELISA para los supernadantes del anticuerpo monoclonal que se unen a NOGO humana recombinante.
 Figura 2A y B, datos de ELISA para el anticuerpo monoclonal purificado que se une a NOGO humana recombinante.
 Figura 3A y B, datos de ELISA para los supernadantes del anticuerpo monoclonal que se une a NOGO humana recombinante.
 Figura 4A y B, datos de ELISA para los supernadantes del anticuerpo monoclonal que se une a NOGO humana recombinante.
 10 Figura 5A y B, datos de ELISA para los supernadantes del anticuerpo monoclonal que se une a NOGO humana recombinante.
 Figura 6, A a F, datos de FACS para el anticuerpo purificado que se une a NOGO humana expresada por las células del neuroblastoma humano.
 Figura 7, resultados de ELISA de competencia.
 15 Figura 8, datos de ELISA para los anticuerpos monoclonales que se unen a NOGO humana recombinante.
 Figura 9, datos de ELISA para los anticuerpos monoclonales que se unen a NOGO humana recombinante.
 Figura 10, datos de ELISA para los anticuerpos monoclonales que se unen a NOGO humana recombinante.
 Figura 11, datos de ELISA para los anticuerpos monoclonales que se unen a NOGO humana recombinante.
 20 Figura 12A y B, datos de ELISA para los anticuerpos monoclonales que se unen a NOGO humana recombinante.
 Figura 13, datos de FACS para el anticuerpo purificado que se une a NOGO humana expresada por las células de neuroblastoma humano.
 Figura 14 A a C, datos de FACS para el anticuerpo purificado que se une a NOGO humana expresada por las células del neuroblastoma humano.
 25

Descripción Detallada de la Invención

30 Los anticuerpos de la invención tienen de comúnmente la estructura de un anticuerpo natural o fragmento funcional del mismo. El anticuerpo por lo tanto puede comprender un anticuerpo integral, un fragmento (Fab')₂, fragmento Fab, un dímero de cadena ligera o dímero de cadena pesado. El anticuerpo puede ser un IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4; o IgM; IgA, IgE o IgD o una variante modificada de los mismos. Por consiguiente se puede seleccionar el dominio constante de la cadena pesada del anticuerpo. El dominio constante de cadena ligera puede ser un dominio constante kappa o lambda. Además, el anticuerpo puede comprender las modificaciones de todas las clases por ejemplo dímeros de IgG, mutantes de Fc que dejan de unirse a los receptores Fc o median la unión de C1q. El anticuerpo también puede ser un anticuerpo quimérico del tipo descrito en el documento WO86/01533, que comprende una región de unión de antígeno y una región sin inmunoglobulina. La región de unión de antígeno es un dominio variable de cadena ligera o dominio variable de cadena pesada del anticuerpo. Comúnmente la región de unión de antígeno comprende los dominios variables de cadena ligera y pesada. La región sin inmunoglobulina está fusionada en su terminal C a la región de unión de antígeno. La región sin inmunoglobulina es comúnmente una proteína sin inmunoglobulina y puede ser una enzima, toxina o proteína que tiene la especificidad de unión conocida.
 35 Las dos regiones de este tipo de anticuerpo quimérico se pueden conectar vía una secuencia de enlace dividida. También se contemplan en la presente invención las inmuno adhesinas que tienen las CDRs según lo describo anteriormente.

45 La región constante se selecciona de acuerdo a la funcionalidad requerida. Un IgG1 mostrará una capacidad lítica a través de la unión a un ADCC (anticuerpo dependiente de la citotoxicidad celular) complemento ario y/o de mediación. Un IgG4 será preferido si se requiere un anticuerpo de bloqueo no citotóxico. Sin embargo, los anticuerpos IgG4 pueden demostrar inestabilidad en la producción y por lo tanto puede ser más preferible modificar el IgG1 generalmente más estable. Se describen las modificaciones sugeridas en el documento EP0307434, las modificaciones preferidas se incluyen en las posiciones 235 y 237. La invención por lo tanto proporciona una forma lítica o no lítica de un anticuerpo de acuerdo a la invención.

50 En una realización el anticuerpo de la invención es un anticuerpo IgG1 no lítico integral (es decir un tetrámero que comprende dos cadenas pesadas y dos ligeras) que tiene las secuencias de VH o VL descritas anteriormente.

55 "NOGO" se refiere a cualquier polipéptido de NOGO, incluyendo las formas variables. Esto incluye, pero no se limita a, NOGO-A que tiene 1192 residuos de aminoácido (Acceso GenBank No. AJ251383); NOGO-B, una variante de unión que carece de los residuos 186 a 1004 en el dominio extracelular putativo (Acceso GenBank No. AJ251384) y una variante de unión más corta, NOGO-C1 que también carece de los residuos 186 a 1004 y también tiene el dominio terminal amino más pequeño alternativo (Acceso GenBank No. AJ251385) (Prinjhá y col. (2000) supra). Se entiende que todas las referencias a "NOGO" en la presente incluyen cualquiera y todas las formas variables de NOGO tal como NOGO-A y las variantes de unión descritas, a menos que se indique una forma específica.

60 "Neutralizar" y variaciones gramaticales de la misma palabra, se refieren a la inhibición, total o parcial, de la función de NOGO incluyendo su unión a las neuronas y la inhibición del crecimiento del exsón.

Los términos Fv, Fc, Fd, Fab, o F(ab)₂ se utilizan con sus significados estándares (ver, por ejemplo, Harlow y col., *Antibodies A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, (1988)).

5 Un "anticuerpo quimérico" se refiere a un tipo de anticuerpo diseñado que contiene una región variable natural (cadena pesada y cadena ligera) derivada de un anticuerpo de donador en la asociación con las regiones constantes de cadena ligera y pesada derivadas de un anticuerpo de aceptor.

10 Un "anticuerpo humanizado" se refiere a un tipo de anticuerpo diseñado que tiene sus CDRs derivadas de una inmunoglobulina de donador no humana, las partes derivadas de inmunoglobulina restantes de la molécula se derivan de una o más inmunoglobulinas humano. Además, los residuos soportados por la estructura se pueden alterar para conservar la afinidad de unión (ver, por ejemplo, Queen y col., *Proc. Natl Acad Sci E.E.U.U.*, 86:10029-10032 (1989), Hodgson y col., *Bio/Technology*, 9:421 (1991)). Un anticuerpo de aceptor humano conveniente puede ser uno seleccionado de una base de datos convencional, por ejemplo, la base de datos KABAT®, base de datos Los Alamos, y la base de datos Swiss Protein, por homología a las secuencias de nucleótido y aminoácido del anticuerpo de donador. Un anticuerpo humano caracterizado por una homología a las regiones de la estructura del anticuerpo de donador (sobre una base de aminoácido) puede ser adecuado para proporcionar una región constante de cadena pesada y/o una región variable de la estructura de cadena pesada para la inserción de las CDRs de donador. Un anticuerpo de aceptor conveniente capaz de donar las regiones de estructura constantes o variables de cadena ligera, se puede seleccionar de una manera similar. Se debe observar que las cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo de aceptor no son requeridas para originar el mismo anticuerpo de aceptor. La técnica anterior describe varias maneras de producir tales anticuerpos humanizados - ver por ejemplo los documentos EP-A-0239400 y EP-A-054951.

15 El término "anticuerpo de donador" se refiere a un anticuerpo (monoclonal, y/o recombinante) que contribuye con las secuencias de aminoácido de sus regiones variables, CDRs, u otros fragmentos o análogos funcionales de las mismas a un primer asociado de inmunoglobulina, para proporcionar la región de codificación de inmunoglobulina alterada y el anticuerpo alterado expresado resultante con la especificidad antigénica y para neutralizar la actividad característica del anticuerpo de donador.

20 El término "anticuerpo de aceptor" se refiere a un anticuerpo (monoclonal y/o recombinante) heterólogo al anticuerpo de donador, que contribuye todas (o cualquier porción, pero preferiblemente todas) las secuencias de aminoácido que codifican sus regiones de cadena pesada y/o ligera de la estructura y/o sus regiones constantes de cadena pesada y/o ligera al primer asociado de inmunoglobulina. Preferiblemente un anticuerpo humano es el anticuerpo de aceptor.

25 Las "CDRs" se definen como las secuencias de aminoácido de la región de determinación de complementariedad de un anticuerpo, las cuales son las regiones hipervariables de las cadenas pesadas y ligeras de inmunoglobulina. Ver, por ejemplo, Kabat y col., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 4th Ed., U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health (1987). Hay CDRs de tres cadenas pesadas y de tres cadenas ligeras (o regiones CDR) en la porción variable de una inmunoglobulina. Así, "CDRs" según lo utilizado en la presente se refiere las CDRs de tres cadenas pesadas, o CDRs de tres cadenas ligeras (o CDRs de todas las cadenas pesadas y de todas las cadenas ligeras, si es apropiado).

30 El plegamiento de la estructura y de la proteína del anticuerpo puede significar que otros residuos son considerados parte de la región de unión de antígeno y sería entendido así por un experto. Ver por ejemplo Chothia y col., (1989) *Conformations of immunoglobulin hypervariable regions*; *Nature* 342, p877-883.

35 Las CDRs proporcionan la mayoría de los residuos de contacto para la unión del anticuerpo al antígeno o epítopo. Las CDRs de interés en esta invención se derivan de las secuencias de cadena pesada y ligera variable del anticuerpo de donador, e incluyen los análogos de las CDRs naturales, cuyos análogos también comparten o conservan la misma especificidad de unión de antígeno y/o la capacidad de neutralización que el anticuerpo de donador de él cual se derivan.

40 Un "fragmento funcional" es una secuencia variable de cadena pesada o ligera parcial (por ejemplo, eliminaciones menores en la terminal amino o carboxi de la región variable de inmunoglobulina) que conserva la misma especificidad de unión de antígeno y la misma o similar capacidad de neutralización que el anticuerpo de él cual el fragmento se deriva.

45 Un "análogo" es una secuencia de aminoácido modificada por al menos un aminoácido, en donde la modificación puede ser química o una sustitución o un reacomodo de algunos aminoácidos (es decir, no más de 10), cuya modificación permite que la secuencia de aminoácido conserve las características biológicas, por ejemplo, especificidad de antígeno y afinidad alta, de la secuencia sin modificar.

50 La presente invención también incluye el uso los fragmentos Fab o fragmentos F(ab')₂ derivados de mAbs de la presente invención dirigidos contra NOGO. Un fragmento Fab contiene la porción terminal entera de cadena ligera y amino de la cadena pesada; y un fragmento F(ab')₂ es el fragmento formado por dos fragmentos Fab unidos por los enlaces disulfuro. Los fragmentos Fab y los fragmentos F(ab')₂ se pueden obtener por medios convencionales, por ejemplo, división de mAb con las enzimas proteolíticas, papaína y/o pepsina apropiadas, o por procedimientos

recombinantes. Los fragmentos Fab y F(ab')₂ son útiles por sí mismos como terapéuticos o profilácticos, y como donadores de las secuencias que incluyen las regiones variables y las secuencias de CDR útiles en la formación de anticuerpos recombinantes o humanizados según lo descrito en la presente.

5 En aún otra realización, el anticuerpo de la invención pudo haberse unido a un agente adicional. Por ejemplo, el procedimiento de la tecnología de ADN recombinante se puede utilizar para producir un anticuerpo diseñado de la invención en el cual el fragmento Fc o dominio CH₂-CH₃ de una molécula de anticuerpo integral se ha sustituido por una la enzima u otra molécula detectable (es decir, una molécula efectora o reportera de polipéptido).

10 Los anticuerpos de la presente invención se pueden producir elaborando un vector de expresión convencional o plásmido recombinante colocando estas secuencias de codificación para el anticuerpo en asociación operativa con las secuencias de control reguladoras convencionales capaces de controlar la multiplicación y expresión en, y/o la secreción de, una célula huésped. Las secuencias reguladoras incluyen las secuencias de promotor, por ejemplo, promotor CMV, y las secuencias señal, que se pueden derivar de otros anticuerpos conocidos. Similarmente, un segundo vector de expresión se puede producir teniendo una secuencia de ADN que codifique una cadena ligera o pesada del anticuerpo complementario. Preferiblemente este segundo vector de expresión es idéntico al primero excepto por que son afectados las secuencias de codificación y los marcadores seleccionables, a modo de asegurar lo más posible que cada cadena de polipéptido sea expresada funcionalmente. Alternativamente, las secuencias de codificación de cadena pesada y ligera para el anticuerpo alterado pueden residir en un solo vector.

20 Una célula huésped seleccionada es co-transfectada por técnicas convencionales con el primer y segundo vectores (o se transfecta simplemente por un solo vector) para crear la célula huésped transfectada de la invención que comprende las cadenas ligeras y pesadas sintéticas o recombinantes. La célula transfectada entonces se cultiva por técnicas convencionales para producir el anticuerpo diseñado de la invención. El anticuerpo que incluye la asociación de la cadena pesada y/o cadena ligera recombinante es analizado a partir del cultivo mediante el análisis apropiado, tal como ELISA o RIA. Las técnicas convencionales similares se pueden utilizar para construir otros anticuerpos y moléculas alterados.

25 Los vectores convenientes para las etapas de clonación y subclonación utilizados en los procedimientos y construcción de las composiciones de esta invención, se pueden seleccionar por un experto en la técnica. Por ejemplo, se puede utilizar la serie pUC convencional de vectores de clonación. Un vector, pUC19, está disponible comercialmente de proveedores, tal como Amersham (Buckinghamshire, Reino Unido) o Pharmacia (Uppsala, Suecia). Además, cualquier vector que es capaz de replegarse fácilmente, tiene una abundancia de sitios de clonación y de genes seleccionables (por ejemplo, resistencia antibiótica), y que se manipula fácilmente se puede utilizar para la clonación.

30 Similarmente, los vectores utilizados para la expresión de los anticuerpos pueden ser seleccionados de cualquier vector convencional por experto en la técnica. Los vectores también contienen las secuencias reguladoras seleccionadas (tal como promotores CMV o RSV) que dirigen la multiplicación y expresión de las secuencias de ADN heterólogas en células huésped seleccionadas. Estos vectores contienen las secuencias de ADN descritas anteriormente que codifican el anticuerpo o la región de codificación de inmunoglobulina alterada. Además, los vectores pueden incorporar las secuencias de inmunoglobulina seleccionadas que son modificadas por la inserción de los sitios de restricción deseables para la manipulación preparada.

40 Los vectores de expresión también se pueden caracterizar por los genes convenientes para la expresión de amplificación de las secuencias de ADN heterólogas, por ejemplo, el gene de dihidrofolato reductasa (DHFR, por sus siglas en inglés) mamífero. Otras secuencias del vector preferibles incluyen una secuencia poli A señal, tal como de la hormona de crecimiento bovina (BGH, por sus siglas en inglés) y la secuencia de promotor de betaglobulina (betaglopro). Los vectores de expresión útiles en la presente se pueden sintetizar por técnicas bien conocidas por los expertos en esta técnica.

45 Los componentes de tales vectores, por ejemplo replicones, genes de selección, mejoradores, promotores, secuencias señal y similares, se pueden obtener de fuentes comerciales o naturales o sintetizarse por procedimientos conocidos para el uso en la dirección de la expresión y/o secreción del producto del ADN recombinante en un hospedador seleccionado. Los otros vectores de expresión apropiados de los cuales numerosos tipos se conocen en la técnica para la expresión mamífera, bacteriana, en insectos, en levaduras, y hongos también se pueden seleccionar para este propósito.

50 También se describen en la presente memoria una línea celular transfectada con un plásmido recombinante que contiene las secuencias de codificación de los anticuerpos o moléculas de inmunoglobulina alteradas de los mismos. También son convencionales las células huésped útiles para la clonación y otras manipulaciones de estos vectores de clonación. Sin embargo, lo más deseable es que, las células de varias cepas de E. coli se utilicen para la multiplicación de los vectores de clonación y para otras etapas en la construcción de los anticuerpos alterados de esta invención.

Las células huésped o líneas celulares convenientes para la expresión del anticuerpo de la invención son células preferiblemente mamíferas tal como NSO, Sp2/0, CHO (por ejemplo DG44), COS, una célula del fibroblasto (por

ejemplo, 3T3), y células de mieloma, y más preferiblemente una CHO o una célula de mieloma. Las células humanas se pueden utilizar, así se permite que la molécula sea modificada con los patrones de glicosilación humana. Alternativamente, se pueden utilizar otras líneas de células eucarióticas. Se conoce en la técnica la selección de las células huésped mamíferas convenientes y de los procedimientos para la transformación, cultivo, amplificación, análisis y producción y purificación del producto. Ver, por ejemplo, Sambrook y col., citado anteriormente.

Las células bacterianas pueden probar ser útiles como células huésped convenientes para la expresión de Fabs recombinantes de la presente invención (ver, por ejemplo, Plückthun, A., Immunol. Rev., 130:151-188 (1992)). Sin embargo, debido a la tendencia de las proteínas expresadas en células bacterianas a estar en una forma sin plegar o plegada incorrectamente o en una forma no glicosilada, cualquier Fab recombinante producido en una célula bacteriana tendría que ser analizado para determinar la retención de la capacidad de unión de antígeno. Si la molécula expresada por la célula bacteriana fuera producida de una forma plagada correctamente, la célula bacteriana sería una huésped deseable. Por ejemplo, varias cepas de *E. coli* usadas para la expresión, son bien conocidas como células huésped en el campo de la biotecnología. Varias cepas de *B. subtilis*, *Streptomyces*, otros bacilos y similares también se pueden utilizar en este procedimiento.

Donde sea deseado, las cepas de células de levadura conocidas por los expertos en la técnica también están disponibles como células huésped, así como las células de insectos, por ejemplo *Drosophila* y *Lepidoptera* y sistemas de expresión viral. Ver, por ejemplo Miller y col., Genetic Engineering, 8:277-298, Plenum Press (1986) y las referencias citadas en los mismos documentos.

Los procedimientos generales por los cuales los vectores se pueden construir, los procedimientos de transfección requeridos para producir las células huésped de la invención, y los procedimientos de cultivo necesarios para producir el anticuerpo de la invención a partir de tal célula huésped, son todas técnicas convencionales. Comúnmente, el procedimiento de cultivo de la presente invención es un procedimiento de cultivo libre de suero, generalmente por células de cultivo libres de suero en suspensión. Asimismo, una vez que se produzcan, los anticuerpos de la invención se pueden purificar de los contenidos de cultivo celular de acuerdo a los procedimientos estándares de la técnica, incluyendo la precipitación de sulfato de amonio, columnas de afinidad, cromatografía en columna, electroforesis en gel y similares. Tales técnicas están dentro de la habilidad de la técnica y no limitan esta invención. Por ejemplo, la preparación de los anticuerpos alterados se describe en los documentos WO 99/58679 y WO 96/16990.

Aún otro procedimiento de expresión de los anticuerpos puede utilizar la expresión en un animal transgénico, tal como el descrito en la Patente Norteamericana No. 4,873,316. Esto se relaciona a un sistema de expresión usando al promotor de caseína del animal que cuando se incorpora de manera transgénica en un mamífero, permite que la hembra produzca la proteína recombinante deseada en su leche.

Una vez que se expresó por el procedimiento deseado, el anticuerpo entonces se examina para determinar la actividad *in vitro* por medio del uso de un análisis apropiado. Los formatos de análisis de ELISA actualmente convencionales se utilizan para determinar la unión cualitativa y cuantitativa del anticuerpo a NOGO. Además, otros análisis *in vitro* también se pueden utilizar para verificar la eficacia de neutralización antes de los estudios clínicos humanos subsecuentes realizados para evaluar la persistencia del anticuerpo en el cuerpo a pesar de los mecanismos de eliminación comunes.

Los agentes terapéuticos de esta invención se pueden administrar como un profiláctico o después de ocurrir el infarto cerebral/inicio de los síntomas clínicos, o según lo necesitado de otra manera. La dosis y duración del tratamiento se relaciona a la duración relativa de las moléculas de la presente invención en la circulación humana, y puede ajustarse por un experto en la técnica dependiendo de la condición que es tratada y de la salud general del paciente. Se considera que la dosificación repetida (por ejemplo una vez por semana o una vez cada dos semanas) durante un período prolongado (por ejemplo cuatro a seis meses) pudo requerir alcanzar una eficacia terapéutica máxima.

El modo de administración del agente terapéutico de la invención puede ser cualquier ruta conveniente que suministre el agente al hospedador. Los antagonistas y anticuerpos, y las composiciones farmacéuticas de la invención son particularmente útiles para la administración parenteral, es decir, de manera subcutánea, intratecal, intraperitoneal, intramuscular, intravenosa, o intranasal, de las cuales la intravenosa es la particularmente preferida.

Los agentes terapéuticos de la invención se pueden preparar como composiciones farmacéuticas que contienen una cantidad efectiva del antagonista o anticuerpo de la invención como un ingrediente activo en un portador farmacéuticamente aceptable. En el agente profiláctico de la invención, se prefiere una suspensión o una solución acuosa que contiene el anticuerpo diseñado, amortiguado preferiblemente en pH fisiológico, en una forma lista para la inyección. La composición para la administración parenteral comprenderá comúnmente una solución de antagonista o anticuerpo de la invención o una combinación de los mismos disueltos en un portador farmacéuticamente aceptable, preferiblemente un portador acuoso. Una variedad de portadores acuosos se puede utilizar, por ejemplo, 0.9% solución salina, 0.3% glicina, y similares. Estas soluciones son estériles y generalmente libres de materia en partículas. Estas soluciones se pueden esterilizar por técnicas de esterilización convencionales bien conocidas (por ejemplo, filtración). Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares

farmacéuticamente aceptables según lo requerido para aproximarse a las condiciones fisiológicas tal como el ajuste del pH y la amortiguación de los agentes, etc. La concentración del antagonista o anticuerpo de la invención en tal formulación farmacéutica puede variar ampliamente, es decir, menos de aproximadamente 0.5%, generalmente a o por lo menos aproximadamente 1% a máximo 15 ó 20% en peso y se seleccionará principalmente en base a volúmenes de fluido, viscosidades, etc., de acuerdo al modo particular de administración seleccionada.

Así, una composición farmacéutica de la invención para la inyección intramuscular se podría preparar para que contenga 1 ml de agua amortiguada de manera estéril, y entre aproximadamente 1 ng a aproximadamente 100 mg, por ejemplo aproximadamente 50 ng a aproximadamente 30 mg o más preferiblemente, aproximadamente 5 mg a aproximadamente 25 mg, de un antagonista o anticuerpo de la invención. Similarmente, una composición farmacéutica de la invención para la infusión intravenosa se podría elaborar para que contenga aproximadamente 250 ml de la solución de Ringer estéril, y aproximadamente 1 mg a aproximadamente 30 mg y preferiblemente 5 mg a aproximadamente 25 mg de un anticuerpo diseñado de la invención. Los procedimientos acetales para preparar las composiciones administrables de manera parenteral son bien conocidos o serán evidentes para los expertos en la técnica y se describen más detalladamente en, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Science, 15th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania. Para la preparación de las formulaciones de anticuerpo administrables de manera intravenosa de la invención, ver Lasmar U y Parkins D "The formulation of Biopharmaceutical products", Pharma. Sci. Tech. today, páginas 129-137, Vol. 3 (3 de abril de 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 Ahem T. J., Manning M. C1 New 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, Kkojima, S. "Excipient crystalinity 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 el agente terapéutico de la invención, cuando está en una preparación farmacéutica, esté presente en formas de dosis unitaria. La dosis apropiada terapéuticamente efectiva se puede determinar fácilmente por los expertos en la técnica. Para trata con efectividad el infarto cerebral y otras enfermedades neurológicas en un humano, una dosis de hasta 700 mg por 70 kg de peso corporal de un antagonista o anticuerpo de esta invención, se debe administrar de manera parenteral, preferiblemente i.v. o i.m. (intramuscular). Tal dosis se puede, en caso de ser necesario, repetir en intervalos de tiempo apropiados seleccionados como apropiados por un médico. Según lo descrito en los ejemplos, los presentes inventores han podido demostrar un efecto positivo sobre la recuperación funcional en el modelo rata, cuando los anticuerpos de la invención fueron administrados de manera intravenosa.

Los anticuerpos descritos en la presente memoria se pueden liofilizar para el almacenamiento y reconstitución en un portador conveniente antes del uso. Se ha mostrado que esta técnica es efectiva con las inmunoglobulinas convencionales y se pueden utilizar las técnicas de liofilización y reconstitución conocidas en la técnica.

Los anticuerpos de la invención también se pueden utilizar en combinación (es decir simultánea, secuencialmente o por separado) con un factor neurotrófico tal como factor de crecimiento de nervio (NGF, por sus siglas en inglés), por ejemplo factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF, por sus siglas en inglés), agentes anti-inflamatorios tal como corticoesteroides, y/o tPA. Las combinaciones de un anticuerpo de NOGO de la invención y por ejemplo tPA se pueden determinar en el modelo MCAO establecido en los ejemplos posteriores.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti-NOGO de la presente invención o un fragmento funcional del mismo y un portador farmacéuticamente aceptable para el tratamiento o profilaxis del infarto cerebral y otras enfermedades neurológicas.

En aún un aspecto adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti-NOGO de la presente invención o un fragmento funcional del mismo y un portador farmacéuticamente aceptable para inhibir la neurodegeneración y/o para promover la recuperación funcional en un paciente humano que padece, o está en riesgo de desarrollar, infarto cerebral u otra enfermedad neurológica.

Los anticuerpos de la invención se pueden usar en procedimientos de tratamiento para ralentizar o detener la progresión y/o el inicio de la enfermedad de Alzheimer además del (o como alternativa al) tratamiento de la enfermedad establecida en un paciente humano.

Las enfermedades o trastornos neurológicos según lo utilizado anteriormente incluyen, pero no se limitan a lesión traumática del cerebro, lesión de la médula espinal, demencias frontotemporales (tauopatías), neuropatía periférica, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple y en particular la enfermedad de Alzheimer.

Los anticuerpos de la invención se pueden usar también en un procedimiento para promover el brote axonal, el cual comprende la etapa de poner en contacto un axon humano con un anticuerpo anti-NOGO. Este procedimiento se puede realizar *in vitro* o *in vivo*, preferiblemente el procedimiento se realiza *in vivo*.

Según lo utilizado en la presente memoria, el término "recuperación funcional" se refiere un mejoramiento motriz y/o sensorial y/o del comportamiento en un sujeto después de por ejemplo un suceso acontecimiento o una lesión isquémica o un inicio de los síntomas clínicos. La recuperación funcional en humanos se puede evaluar por los instrumentos diseñados para medir las funciones neurológicas elementales tal como fuerza motriz, sensación y coordinación, las funciones cognoscitivas tal como memoria, habla y la capacidad de seguir indicaciones, y las capacidades funcionales tal como actividades básicas de la vida diaria o actividades útiles. La recuperación de la función neurológica elemental se puede medir con los instrumentos tal como NIH Stroke Scale (NIHSS), la recuperación de la función cognoscitiva se puede medir con las pruebas neuropsicológicas tal como Boston Name Test, Trail-making Tests, y California Verbal Learning Test, y las actividades de la vida diaria se pueden medir con los instrumentos tal como la escala ADCS/ADL (Alzheimer's Disease Clinical Studies/Activities of Daily Living) o la Bristol Activities of Daily Living Scale, todas las pruebas y escalas conocidas en la técnica.

Ejemplo 1, Construcción y Expresión de los Anticuerpos Anti-NOGO Humanizados

Los constructos de V_H y de V_L de murino y humanizados fueron preparados nuevamente por elaboración de oligonucleótidos traslapados que incluyen los sitios de restricción para clonarse en los vectores mamíferos de expresión de R_{Id} y R_{In} así como una secuencia señal humana. Los sitios de restricción Hind III y Spe I fueron introducidos para estructurar el dominio de V_H que contiene la secuencia señal de CAMPATH-1H para clonarse en R_{Id} que contenía la región constante mutada humana γ 1. Los sitios de restricción Hind III y BsiWI fueron introducidos para estructurar el dominio V_L que contiene la secuencia señal de CAMPATH-1H para clonarse en R_{In} que contiene la región constante humana kappa.

La secuencia señal de CAMPATH-1H: MGWSCIILFLVATATGVHS (SEC ID NO: 82). Similarmente una versión quimérica de 11C7 fue generada (ver el documento WO04/052932). La secuencia de dominio variable de cadena pesada (derivado de SEC ID NO: 43 del documento WO04/052932) y la secuencia de dominio variable de cadena ligera (derivada de SEC ID NO: 44 del documento WO04/052932) fueron preparados nuevamente por la elaboración de los oligonucleótidos traslapados. Los sitios de restricción Hind III y SpeI fueron introducidos para estructurar el dominio V_H para clonarse en R_{Id} que contiene la región constante mutada humana γ 1. Los sitios de restricción Hind III y BsiWI fueron introducidos para estructurar el dominio V_L para clonarse en R_{In} que contiene la región constante humana kappa.

Ejemplo 2, Expresión del Anticuerpo en Células CHO

Los plásmidos R_{Id} y R_{In} que codifican las cadenas pesadas y ligeras respectivamente fueron co-transfectados temporalmente en las células CHO y expresados a escala pequeña o escala grande para producir el anticuerpo. Los mismos plásmidos fueron alternativamente co-transfectados en las células CHO por electroporación y una población policlonal estable de células que expresó el anticuerpo apropiado, fue seleccionada usando un medio libre de nucleósido. En algunos casos el anticuerpo contenido en el supernadante fue probado, en otros casos el anticuerpo recombinante fue recuperado y purificado por cromatografía de afinidad en sefarosa de proteína A.

Ejemplo 3, Anticuerpo Anti-NOGO Humanizado Unido a NOGO

GST-NOGO-A56 humana (SEC ID NO: 76) a 1 μ g/ml en PBS se recubrió sobre placas Nunc Immunosorp (100 μ l por pozo) a 4°C durante la noche. Los pozos fueron enjuagados una vez con TBS + 0.05% Tween (TBST) después se incubaron con 2% BSA en TBST para bloquear los sitios de unión no específicos a temperatura ambiente durante 1 hora. Los anticuerpos fueron diluidos en TBST + 2% BSA 10 a 10 g/ml y 1/2 diluciones se hicieron a partir de esto. Los anticuerpos fueron agregados a los pozos por duplicado e incubados a temperatura ambiente durante 1 hora. Los pozos fueron lavados tres veces con TBST después fueron incubados con el conjugado de peroxidasa kappa anti-humano (1:2000) durante 1 hora. Los pozos fueron lavados tres veces con TBST y después incubados con 100 μ l sustrato de peroxidasa de OPD (Sigma) por pozo durante 10 minutos. La reacción de color fue detenida por la adición de 25 μ l H₂SO₄ concentrado. La densidad óptica a 490 nm fue medida usando un lector de placa. Los valores anteriores leídos en los pozos sin anticuerpo fueron restados.

Las figuras 1-5 ilustran la unión dependiente de la dosis de los anticuerpos humanizados en comparación a la quimera (llamada HcLc que es la quimera de 2A10 (que comprende el 2A10 V_H de murino (SEC ID NO: 7) y V_L (SEC ID NO: 8) y las regiones constantes de IgG humano)) a NOGO-A56 humana (ver el ejemplo 6 para los detalles) en un análisis de ELISA. El eje Y muestra la densidad óptica medida (OD, por sus siglas en inglés) a 490 nm, una medición cuantitativa del anticuerpo capturado en los pozos. El eje X muestra la concentración del anticuerpo usado (mcg/ml) por pozo en cada punto de datos.

El material del anticuerpo usado en las figuras 1, 3, 4 y 5 fue generado de transfecciones temporales a escala pequeña. Los niveles de IgG humano en el supernadante son cuantificados por ELISA (ejemplo 4). Para la figura 2, el material usado fue el anticuerpo purificado (ver el ejemplo 2) generado por el sistema de expresión policlonal o por las transfecciones temporales a gran escala. En estos casos, los niveles de IgG fueron cuantificados por ELISA y densidad óptica.

En otro experimento, el material del anticuerpo (en forma de supernadante de cultivo de células CHO) fue generado a partir de las transfecciones temporales a escala pequeña (por triplicado) para los siguientes anticuerpos

humanizados: H16L16, H17L16, H18L16, H16L18 y el anticuerpo quimérico HcLc. Los resultados de este experimento son de acuerdo a los datos presentados en las figuras 1-5 a excepción de H17L16 que se realizó menos adecuadamente que lo mostrado en las figuras 1A y la figura 2. Mientras que esta observación no se pueda explicar, se debe observar que las conclusiones son contrarias a otro experimento con el material flotante (ver la figura 1A) y a un experimento que usa el material purificado H17L16 (la figura 2), ambos experimentos indicaron que H17L16 muestra la unión comparable a las otras variantes optimizadas.

Ejemplo 4. Protocolo de Cuantificación del Anticuerpo

Las placas Nunc Immunosorp se recubrieron con el anticuerpo capturado H19 (cadena anti-IgG humano de cabra, Sigma # 13382) a 2 µg/ml en amortiguador de bicarbonato (Sigma # C3041) y se incubaron durante la noche a 4°C. Las placas fueron lavadas dos veces con TBS que contiene 0.05% Tween20 (TBST) y bloqueadas con 200 µl TBST que contiene 2% BSA (amortiguador de bloqueo) durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas fueron lavadas dos veces con TBST. Los supernadantes del cultivo tisular que contienen el anticuerpo fueron titulados a través de la placa en etapas de dilución de 2 veces en amortiguador de bloqueo y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Las placas fueron lavadas tres veces con TBST. El anticuerpo H23 conjugado con HRP (cadena kappa anti-humano de cabra, sigma # A7164) fue diluido 1:2000 en TBST y 100 µl se agregaron a cada pozo. Las placas fueron incubadas a temperatura ambiente durante 1 hora. Las placas fueron lavadas tres veces con TBST y desarrolladas con 100 µl de sustrato Fast-OPD (Sigma # P9187). Se dejó desarrollar el color durante 5-10 mins momento después de tal tiempo se detuvo el ELISA con 25 µl 3M H₂SO₄. La absorbencia a 490 nm fue leída de la placa y la concentración del anticuerpo fue determinada por referencia a una curva estándar.

Ejemplo 5. Protocolo de ELISA de Competencia del Anticuerpo

GST-NOGO-A56 humano (SEC ID NO: 76) a 0.1-1.0 µg/ml en PBS se recubrió sobre las placas Nunc Immunosorp (100 µl por pozo) a 4°C durante la noche o a 37°C durante 1 hora. Los pozos fueron enjuagados tres veces con PBS después se incubaron con 1% de BSA en PBS (amortiguador de bloqueo) para bloquear los sitios de unión no específicos a temperatura ambiente durante 2 horas. Al mismo tiempo, fue hecha una mezcla 50:50 de anticuerpos. El anticuerpo 2A10 de murino fue agregado a una concentración final de 0.5 o 1.0 mcg/ml en amortiguador de bloqueo. Los anticuerpos quiméricos (regiones variables de ratón clonadas sobre una región constante mutada de IgG1 Fc humano) fueron agregados a una concentración final de 0-25 mcg/ml en amortiguador de bloqueo. El amortiguador de bloqueo fue eliminado de las placas y 100 µl de la mezcla 50:50 de anticuerpos fueron agregados durante 1 hora a temperatura ambiente. Los pozos fueron lavados tres veces con PBS después incubados con 100 µl de conjugado de peroxidasa de inmunoglobulinas de anti-ratón policlonales de conejo (diluidos a 1:2000 en amortiguador de bloqueo, DakoCytomation #P0260) durante 1 hora a temperatura ambiente. Los pozos fueron lavados tres veces con PBS y después incubados con 100 µl sustrato de peroxidasa de OPD (Sigma # P9187) o sustrato de TMB (Sigma # T8665) por pozo durante 10-30 minutos. La reacción de color se detuvo por la adición de 25 µl H₂SO₄ concentrado. La densidad óptica a 490 nm (OPD) o 450 nm (TMB) fue medida usando un lector de placa.

En el primer experimento (figura 7A), las placas fueron recubiertas con GST-NOGO-A56 humana a 0.5 µg/ml en PBS durante la noche a 4°C y las placas fueron desarrolladas con sustrato de TMB. En este experimento, el anticuerpo 2A10 de murino fue determinado en combinación con HcLc (la forma quimérica de 2A10), 11C7, un anticuerpo quimérico de control de isotipo y un testigo. En el segundo experimento (figura 7B), las placas fueron recubiertas con GST-NOGO-A56 humana a 0.5 µg/ml en PBS a 37°C durante 1 hora y las placas fueron desarrolladas con sustrato de OPD. En este experimento, el anticuerpo 2A10 de murino fue determinado en combinación con HcLc, 11C7, un control de isotipo y el anticuerpo H16L18 purificado.

Ejemplo 6. Producción del Fragmento NOGO-A (NOGO-A56. SEC ID NO: 76)

Una secuencia de ADNc que codifica los aminoácidos 586-785 (MQESLYPAAQLCPSFESEATPSPVLPDIVMEAP LNSAVPSAGASVIQPSSSPLEASSVNYESIKHEPENPPPYEEAMSVSLKKVSGIKKEIKEPENINAALQETEAPYISACD LIKETKLSAEPAPDFSDYSEMAKVEQVPDPHSELVEDSSPDSEPVDFSDSIPDVPQKQDETVMVKESLTETSFE MIEYENKE - SEC ID NO: 76) de NOGO-A humana fue clonada en los sitios de BamHI-XhoI de pGEX-6P1 para generar una proteína de fusión etiquetada con GST designada como NOGO-A56. El plásmido fue expresado en las células BL21 en el medio 2XTY con 100 µg/ml de ampicilina después de la inducción con IPTG a 0.5 mM a 37°C durante 3 horas. Los gránulos celulares fueron lisados por tratamiento sónico y la proteína de fusión se purificó usando glutationa-sefaraosa (Amersham Pharmacia) siguiendo las instrucciones de los fabricantes. La proteína purificada fue eluida usando glutationa reducida y se dializó ampliamente contra PBS, se cuantificó con estándares de BSA y un manchado con BioRad coomassie se basó en el análisis de proteína y después se almacenó en alícuotas a -8°C.

Ejemplo 7. Análisis BiaCore de los Anticuerpos Monoclonales Anti-NOGO Humanizados

La cinética de unión de los anticuerpos monoclonales purificados anti-NOGO (mAb) a NOGO-A humana expresada de manera recombinante (GST-NOGO-A56 humana) fue analizada usando el biosensor Biacore3000. El chip de hNOGO-A fue preparado como sigue:

Procedimiento

5 hNOGO (GST-NOGO-A56 humana) fue inmovilizada en un chip de CM5 por el acoplamiento de amina primaria usando el programa Biacore Wizard diseñado para los niveles de inmovilización detectados. La superficie del sensor CM5 fue activada haciendo pasar una solución de 50 mM N-hidroxi-succinimida (NHS) y 200 mM carbonida de N-etil-N'-dimetilaminopropilo (EDC). Entonces hNOGO en amortiguador de acetato de sodio, pH 5.0 o pH 4.5, se hizo pasar sobre el chip y se inmovilizó. Después de que la inmovilización fuera completada cualquier éster aún activado fue bloqueado por una inyección de 1 M clorhidrato de etanolamina, pH 8.5.

10 Los mAbs anti-NOGO fueron diluidos en HBS-EP (10 mM HEPES1 pH 7.4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, y 0.005% tensoactivo P-20) y los estudios de unión fueron realizados a un intervalo de las concentraciones definidas del anticuerpo. Todas la ejecuciones fueron referidos contra una superficie de sensor vacía (una que había sido activada y bloqueada según lo descrito anteriormente pero no tenía ninguna adición de ligando). El análisis de unión fue realizado usando la versión 4.1 del programa de análisis cinético BIAevaluation. El análisis Biacore de otros anticuerpos de la invención esencialmente siguió el mismo protocolo según lo descrito en la presente.

Resultados – Tabla 8

15 Promedio (+/-desviación estándar) de los cuatro experimentos separados

Anticuerpo	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
HcLc	2,70e6 (2,7e5)	3,78e-3 (7,0e-4)	1,41 (0,3)
H6L13	1,82e6 (3,5e5)	1,37e-2 (2,0e-3)	7,68 (1,2)
H16L16	4,37e6 (4,5e5)	5,54e-3 (1,4e-3)	1,26 (0,2)
H16L18	4,18e6 (4,1e5)	5,52e-3 (9,0e-4)	1,33 (0,2)
H17L16	3,38e6 (1,3e5)	6,10e-3 (1,3e-3)	1,82 (0,4)
H18L16	3,64e6 (3,5e5)	5,86e-3 (9,0e-4)	1,62 (0,3)
H1 L11	1,73e6 (1,7e5)	3,14 e-2 (4,2e-3)	18,6 (3,7)

Resultados - Tabla 9

Los resultados mostrados son de un solo experimento a excepción de HcLc y H6Lc donde los valores son el promedio (+/- desviación estándar) de dos experimentos separados

Anticuerpo (número de ejecuciones independientes)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
HcLc (2)	3,52e6 (2,8e5)	3,46e-3 (7,9e-4)	0,995 (0,3)
HcL11	3,78e6	1,34e-2	3,55
H6Lc (2)	2,17e6 (3,8e5)	2,84e-3 (1,5e-3)	2,21 (0,3)

Anticuerpo (número de ejecuciones independientes)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
HcL13	4,8e6	9,38e-3	1,98
H6L13	2,95e6	2,33e-2	7,9
H6L6	1,2e6	2,54e-2	21,4
H10L13	1,64e6	2,12e-2	12,95
H700L11	1,19e6	2,33e-2	19,45
H5L6	1,5e6	4,7e-2	30,3
11C7	1,44e6	8,25e-5	0,057

Resultados - Tabla 10

Los resultado mostrados son de un solo experimento.

Anticuerpo	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
H6L13	1,77e6	1,3e-2	7,3
H16L16	5,47e6	5,69e-3	1,0
H14L16	2,05e6	7,39e-3	3,6
H14L18	2,41e6	8,69e-3	3,6
H1 L11	1,33e6	2,84e-2	21,3
HcLc	2,62e6	4,12e-3	1,6

5

Ejemplo 8. Análisis BiaCore de los Anticuerpos Monoclonales de NOGO Humanizados Usando la Clasificación de la Constante de Asociación

El chip de hNOGO fue preparado para el análisis cinético. Los supernadantes celulares están donde se tomaron directamente de las transfecciones temporales de las células CHO-K1. Éstos se hicieron pasar directamente sobre la superficie de sensor y fue medida la interacción. Un supernadante celular transfectado simulado fue utilizado para referirse doblemente a la eliminación de cualquier objeto debido al medio de cultivo tisular. Todos las ejecuciones fueron referidas contra una superficie de sensor vacía (una que había sido activada y bloqueada según lo descrito anteriormente pero que no tuvo ninguna adición de ligando). El análisis de unión fue realizado usando la versión 4.1 del programa de análisis cinético BIAevaluation.

Resultados - Tabla 11

Los resultados mostrados son de un solo experimento a excepción de H6L13, H16L16, H16L18, H1L11, HcLc y H18L16 en donde los valores mostrados son el promedio (+/- desviación estándar) de dos o tres experimentos separados.

Anticuerpos (número de ejecuciones independientes)	Kd (1/s)
H14L13	1,38e-2
H15L13	9,65e-3
H16L13	9,07e-3
H17L13	9,31e-3
H18L13	9,07e-3
H6L13 (x3)	1,73e-2 (4,8e-3)

20

25

H16L16 (x3)	6,64e-3 (9,2e-4)
H16L18 (x3)	6,09e-3 (7,4e-4)
H1L11 (x3)	4,03e-2 (1,8e-2)
HcLc (x2)	3,76e-3 (7,1e-4)
H15L16	6,042-3
H14L16	8,9e-3
H18L16 (x2)	6,87e-3 (7,5e-4)
H14L18	8,35e-3
H15L18	5,94e-3
H18L18	5,8e-3
H6L17	1,58e-2
H6L18	1,06e-2
H6L14	4,57e-2
H6L15	2,11e-2
H6L16	1,14e-2

Ejemplo 9, análisis FACS de Anticuerpos Monoclonales Anti-NOGO humanizados

Las células IMR32 del neuroblastoma humanas fueron suspendidas nuevamente en amortiguador de manchado de FACS (PBS + 4% FCS inactivado por calor) a una densidad de 10^6 células por ml. 100 μ l de esta suspensión fue transferida a los pozos de una microplaca de fondo redondo de 96 pozos. 100 μ l de medio A "Fix & Perm" (Caltag Laboratories, GAS001S-100) fue agregado a cada pozo y la placa fue incubada a temperatura ambiente durante 15 minutos. Las células fueron granuladas, lavadas dos veces en amortiguador de manchado de FACS. Después del lavado, las células fueron suspendidas nuevamente en 50 μ l de una solución de anticuerpos purificados anti-NOGO o un isotipo que igualó el anticuerpo de control a una concentración de 2X la concentración final (0-200 μ g/ml en amortiguador de manchado de FACS). 50 μ l de medio B "Fix & Perm" (Caltag Laboratories GAS002S-100) fue agregado y la placa fue incubada en hielo durante 1 hora. Las células fueron lavadas dos veces en amortiguador de manchado de FACS antes suspenderse nuevamente en 100 μ l de una solución de un F(ab')₂ de cabra específico γ 1 anti-humano conjugado de PE (Sigma P-8047) en una dilución de 1/50 ó 1/100. Las células se incubaron durante 1 hora en hielo. Las células fueron granuladas y lavadas 3 veces en amortiguador de manchado de FACS y las células se suspendieron nuevamente en n 100 μ l del el mismo amortiguador. 100 μ l de medio B "Fix & Perm" fue agregado para fijar las células para los experimentos mostrados en las figuras 6 y 13. 100 μ l de BD CellFIX fue agregado para fijar las células para los experimentos mostrados en la figura 14. El grado de manchado fue determinado por la cartometría de flujo usando un citómetro de flujo Becton Dickinson FACScan. Los controles de igualación de isotipo fueron utilizados como referencia.

Los resultados se muestran en la figura 6A a F. La totalidad de los datos mostrados ilustran que el anticuerpo HcLc (de 2A10) proporciona una señal fuerte en este análisis de FACS, lo cual indica la unión fuerte a NOGO expresado de células humanas. Los datos también muestran que las versiones humanizadas de esta quimera pueden conservar esta propiedad. El anticuerpo H20L16 supera constantemente a 11C7 en este análisis, mientras que el anticuerpo quimérico 2A10, y otras versiones humanizadas del mismo, superan constantemente 11C7 en este análisis o son comparables al mismo.

Ejemplo 10, Anticuerpos Monoclonales Humanizados Anti-NOGO Adicionales

Siguiendo las técnicas descritas en los ejemplos 1 y 2, fue producido un número de anticuerpos monoclonales adicionales. La actividad de unión de estos anticuerpos fue probada por BIAcore, ELISA y FACS.

10.1 BIAcore

De acuerdo a las metodologías descritas en el ejemplo 7, se muestran los datos de los anticuerpos anti-NOGO adicionales en las siguientes tablas 13, 14, 15 y 17 (material de anticuerpo purificado) y tabla 16 (material flotante).

Resultados - Tabla 13

Los resultados mostrados son de un solo experimento. En este experimento, el valor obtenido para H16L16 no fue el común de los valores obtenidos en otros experimentos (que exhiben comúnmente KD(nM) de aproximadamente 1 (ver las tablas 8 y 10)).

ES 2 391 902 T3

Anticuerpo	$k_a(1/Ms)$	$k_d(1/s)$	KD (nM)
HcLc	2,6e6	4,4e-3	1,7
H20L 16	4,4e6	7,3e-3	1,7
H22L16	4,ge6	6,ge-3	1,47
H23L16	1,ge6	6,4e-3	3,8
H24L 16	1,ge6	6,ge-3	3,7
H6L13	2,2e6	1,4e-2	6,4
H1L11	1,4e6	3,1e-2	22,3
H16L16	1,2e6	4,0e-3	3,4

Resultados - Tabla 14

Los resultados mostrados son de un solo experimento.

Anticuerpo	$k_a(1/Ms)$	$k_d(1/s)$	KD (nM)
H1L11	1,34e6	2,82e-2	21,0
H6L13	2,02 e6	1,57e-2	7,76
HcLc	2,46 e6	3,5e-3	1,42
H20L16	5,24 e6	8,47 e-3	1,61
H22L16	5,83 e6	7,67 e-3	1,32
H23L16	2,95 e6	5,87 e-3	1,99
H24L16	2,3 e6	5,72 e-3	2,493

Resultados – Tabla 15

Los resultados mostrados son de un solo experimento.

Anticuerpo	$k_a(1/Ms)$	$k_d(1/s)$	KD (nM)
H1L11	1.19E6	2.19E-2	18.4
H6L13	1.91E6	1.55E-2	8.1
HcLc	2.32E6	3.69E-3	1.59
H22L 16	5.69E6	7.59E-3	1.33
H16L13	4.76E6	1.21 E-2	2.53
H20L13	5.25E6	1.6E-2	3.06

5 Resultados - Tabla 16

Los resultados mostrados son de un solo experimento. Los datos son la clasificación de la constante de disociación basada en el material de supernadante a partir de la transfección temporal a escala pequeña.

Anticuerpo	Constante de disociación: kd (1/s)	
H23Lc	3,42E-03	
H24Lc	3,83E-03	
HcLc	3,92E-03	5
H22Lc	4,67E-03	
H20Lc	5,07E-03	
H16L18	5,66E-03	
H21Lc	5,69E-03	10
H16L16	5,77E-03	
H24L16	5,85E-03	
H19Lc	5,95E-03	
H23L16	6,06E-03	
H20L16	7,18E-03	15
H22L16	7,78E-03	
H19L16	8,73E-03	
H23L13	9,56E-03	
H24L 13	9,96E-03	
H20L13	1,20E-02	20
H21L13	1,20E-02	
H19L13	1,30E-02	
H16L13	1,38E-02	
H1L11	1,96E-02	

25

Tabla 17

Los resultados son de 12 ejecuciones independientes, Los datos mostrados son la desviación promedia y estándar de las 12 ejecuciones,

Anticuerpo	<i>Ka</i>	<i>kd</i>	KD(nM)
H20L16	5,43e6 (1,77e5)	1,02e-2 (1,56e-3)	1,86(0,16)
HcLc	3,92e6(4,7 4e5)	7,54e-3(1,90e-3)	1,90(0,18)

10.2 ELISA

30 Basado en las metodologías descritas en el ejemplo 3, los datos adicionales sobre los anticuerpos de NOGO se muestran en las figuras 8-11, En algunos de estos experimentos, fueron utilizadas diferentes concentraciones de antígeno de recubrimiento (0,1-1,0 mcg/ml)

Resultados - figura 8, Antígeno de NOGO recubierto a 1,0 mcg/ml

Resultados - figura 9, Antígeno de NOGO 5+6 recubierto a 0,1 mcg/ml

Resultados - figura 10, Antígeno de NOGO recubierto a 0,5 mcg/ml

Resultados - figura 11, Antígeno de NOGO recubierto a 1,0 mcg/ml

- 5 Resultados - figura 12A y B, antígeno de GST-human NOGO A56 recubierto a 1,0 mcg/ml, ELISA de unión del material supernadante de la transfección temporal a escala pequeña
 10,3 FACS Intracelulares

Basado en las metodologías descritas en el ejemplo 9, los datos de FACS adicionales se muestran en la figura 13,

Los datos adicionales se muestran en la figura 14 A a C, La figura 14A representa un solo punto de datos para cada

- 10 muestra, Las figuras 14A y 14B representan el promedio de muestras duplicadas,

Ejemplo 11, Análisis BiaCore de Formato Inverso de los Anticuerpos Monoclonales Anti-NOGO Humanizados

La cinética de unión de los anticuerpos monoclonales anti-NOGO purificados (mAb) a NOGO-A humana expresada de manera recombinante (GST-NOGO-A56 humana) fue analizada usando el BiacoreT100, El chip fue preparado como sigue:

15 **Procedimiento**

El análisis cinético Biacore™ de los anticuerpos de NOGO humanizados fue realizado usando la captura de la proteína A de los anticuerpos candidatos, Brevemente, la proteína A fue inmovilizada en un chip CM5 por el

acoplamiento de amina primaria, usando los procedimientos de acoplamiento estándares, a densidades de aproximadamente 3000-4000 unidades de resonancia (RUs) usando el asistente de inmovilización inherente en el

- 20 software de las máquinas, El anticuerpo humanizado entonces se hizo pasar sobre la superficie de proteína A y se capturó a niveles de aproximadamente 200-400 RUs, después de un período de estabilización, NOGO humana 5+6

GST se hizo pasar sobre la superficie del anticuerpo capturado a concentraciones definidas y fueron obtenidos los sensogramas de unión, La regeneración ácida (100 mM H₃PO₄ o 10 mM glicina pH 1,5) dio lugar a eliminación total

- 25 del anticuerpo capturado de la superficie de proteína A, y no redujo significativamente la capacidad de unión de las superficies, Todas las curvas fueron referidas doblemente contra una inyección de amortiguador en lugar de NOGO humana 5+6 GST y los datos fueron ajustados al modelo de unión 1:1 usando los parámetros de ajuste global en el software de evaluación Biacore T100 v1,1, Todos los experimentos se llevaron acabo en un instrumento T100,

Tabla 18 - Los Resultados mostrados son la desviación promedio y estándar de 5 ó 6 ejecuciones independientes

Anticuerpo	<i>K_a</i>	<i>k_d</i>	KD (nM)
H20L16	1,01e6(1,35e5)	3,13e-4(2,7ge-5)	0,31 (0,036)
HcLc	1,38e6(3,70e5)	5,6ge-4(1,54e-4)	0,41 (0,062)
11C7	2,85e5(4,06e4)	1,17e-4(1,22e-5)	0,42(0,065)

ES 2 391 902 T3

Sumario de las Secuencias del Anticuerpo NOGO (Tabla 12)

Descripción	Identificador de secuencia (SEC ID NO)	
	Secuencia de aminoácido	Secuencia de Polinucleótido
2A10, CDR-H1	1	-
2A10, CDR-H2	2	-
2A10, CDR-H3	3	-
2A10, CDR-L 1	4	-
2A 10, CDR-L2	5	-
2A 10, CDR-L3	6	-
2A10, VH (murino)	7	41
2A10, VL (murino)	8	42
cadena pesada quimérica Hc	9	43
cadena ligera quimérica Lc	10	44
constructo humanizado de 2A10 de VH H5	11	45
constructo humanizado de 2A10 de VH H6	12	46
constructo humanizado de 2A10 de VH H700	13	47
constructo humanizado de 2A10 de VH H14	14	48
constructo humanizado de 2A10 de VH H15	15	49
constructo humanizado de 2A10 de VH H16	16	50
constructo humanizado de 2A10 de VH H17	17	51
constructo humanizado de 2A10 de VH H18	18	52
constructo humanizado de 2A10 de VL L6	19	53
constructo humanizado de 2A10 de VL L13	20	54
constructo humanizado de 2A10 de VL L14	21	55
constructo humanizado de 2A10 de VL L15	22	56
constructo humanizado de 2A10 de VL L16	23	57
constructo humanizado de 2A10 de VL L17	24	58
constructo humanizado de 2A10 de VL L18	25	59
constructo humanizado de cadena pesada de 2A10 H5	26	60
constructo humanizado de cadena pesada de 2A10 H6	27	61

ES 2 391 902 T3

Descripción	Identificador de secuencia (SEC ID NO)	
	Secuencia de aminoácido	Secuencia de Polinucleótido
constructo humanizado de cadena pesada de 2A10 H700	28	62
constructo humanizado de cadena pesada de 2A10 H14	29	63
constructo humanizado de cadena pesada de 2A10 H15	30	64
constructo humanizado de cadena pesada de 2A10 H16	31	65
constructo humanizado de cadena pesada de 2A10 H17	32	66
constructo humanizado de cadena pesada de 2A10 H18	33	67
constructo humanizado de cadena ligera de 2A10 L6	34	68
constructo humanizado de cadena ligera de 2A10 L13	35	69
constructo humanizado de cadena ligera de 2A10 L14	36	70
constructo humanizado de cadena ligera de 2A10 L15	37	71
constructo humanizado de cadena ligera de 2A10 L16	38	72
constructo humanizado de cadena ligera de 2A10 L17	39	73
constructo humanizado de cadena ligera de 2A10 L18	40	74
Secuencia principal de Campath	75	-
Aminoácidos 586-785 de NOGO A humana (NOGO-A56)	76	-
constructo humanizado de 2A10 de VH H1	77	81

ES 2 391 902 T3

(cont.)		
constructo humanizado de 2A10 de VL L11	78	82
constructo humanizado de cadena pesada de 2A10 H1	79	83
constructo humanizado de cadena ligera de 2A10 L11	80	84
constructo humanizado de 2A10 de VH H19	85	99
constructo humanizado de 2A10 de VH H20	86	100
constructo humanizado de 2A10 de VH H21	87	101
constructo humanizado de 2A10 de VH H22	88	102
constructo humanizado de 2A10 de VH H23	89	103
constructo humanizado de 2A10 de VH H24	90	104
constructo humanizado de 2A10 de VH H25	91	105
constructo humanizado de cadena pesada de 2A10 H19	92	106

Descripción	Identificador de secuencia (SEC ID NO)	
	Secuencia de aminoácido	Secuencia de Polinucleótido
constructo humanizado de cadena pesada de 2A10 H20	93	107
constructo humanizado de cadena pesada de 2A10 H21	94	108
constructo humanizado de cadena pesada de 2A10 H22	95	109
constructo humanizado de cadena pesada de 2A10 H23	96	110
constructo humanizado de cadena pesada de 2A10 H24	97	111
constructo humanizado de cadena pesada de 2A10 H25	98	112

Secuencias

SEQ ID 1: 2A10 CDR-H1 SYWMH
 SEQ ID 2: 2A10 CDR-H2 NINPSNGGTNYNEKFKS
 SEQ ID 3: 2A10 CDR-H3 GQGY
 SEQ ID 4: 2A10 CDR-L1 RSSKSLLYKDGKTYLN
 SEQ ID 5: 2A10 CDR-L2 LMSTRAS
 SEQ ID 6: 2A10 CDR-L3 QQLVEYPLT

SEQ ID 7: 2A10, VH (murino)

QVQLQQPGTELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIN
 PSNGGTNYNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCELGQGYWG
 QGTTLVSS

SEQ ID 8: 2A10, VL (murino)

DIVITQDELSPVTSGESVSISSCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPGQSPQLLIYL
 MSTRASGVSDRFSGSGSGTDFTLEISRVAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGAGTK
 LELK

SEQ ID 9: Cadena química pesada Hc

MGWSCIIIFLVAATGVHSQVQLQQPGTELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWM
 HWVKQRPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLT
 SEDSAVYYCELGQGYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
 CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ

TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 10: Cadena quimérica ligera Lc

MRCSLQFLGVLMFWISGVSGDIVITQDELSNPVTSGESVVISCRSSKSLLYKDG
KTYLNWFLQRPGQSPQLLIYLMSTRASGVSDRFSGSGSGTDFLTLEISRVKAEDV
GVYYCQQLVEYPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN
NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDESTYSLSSSTLTLSKADYEKHK
VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID 11: Construcción humanizada 2A10 VH H5

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGN
INPSNGGTNYNEKFKSRVTMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGGY
WGQGLTVTVSS

SEQ ID 12: Construcción humanizada 2A10 VH H6

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNI
NPSNGGTNYNEKFKSRATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGGY
WGQGLTVTVSS

SEQ ID 13: Construcción humanizada 2A10 VH H700

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNI
NPSNGGTNYNEKFKSRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGGYWG
GQGLTVTVSS

SEQ ID 14: Construcción humanizada 2A10 VH H14

QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQAPGQGLEWIGNI
NPSNGGTNYNEKFKSRATLTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGGYWG
GQGLTVTVSS

SEQ ID 15: Construcción humanizada 2A10 VH H15

QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGLEWIGNIN
PSNGGTNYNEKFKSKATLTVDTSSSTAYMELSSLRSEDSAVYYCELGGYWG
QGLTVTVSS

SEQ ID 16: Construcción humanizada 2A10 VH H16

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVKQRPQGLEWIGNIN
PSNGGTNYNEKFKSKATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGGYWG
QGLTVTVSS

SEQ ID 17: Construcción humanizada 2A10 VH H17
QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIN
PSNGGTNYNEKFKSKATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGQGYWG
QGTLVTVSS

SEQ ID 18: Construcción humanizada 2A10 VH H18
QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIN
PSNGGTNYNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMELSSLRSEDSAVYYCELGQGYWG
QGTLVTVSS

SEQ ID 19: Construcción humanizada 2A10 VL L6
DIVMTQSPLSLPVTLPGEPAISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPGQSPQLLIYL
MSTRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGGGTK
VEIK

SEQ ID 20: Construcción humanizada 2A10 VL L13
DIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFQQRPGQSPQLLIY
LMSTRASGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGT
KLEIK

SEQ ID 21: Construcción humanizada 2A10 VL L14
DIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPGQSPQLLIYL
MSTRASGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTK
LEIK

SEQ ID 22: Construcción humanizada 2A10 VL L15
DIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPGQSPQLLIYL
MSTRASGVSDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTK
LEIK

SEQ ID 23: Construcción humanizada 2A10 VL L16
DIVMTQSPLSNPVTLGQPVSISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPGQSPQLLIYL
MSTRASGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTK
LEIK

SEQ ID 24: Construcción humanizada 2A10 VL L17
DIVMTQDPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFQQRPGQSPQLLIY
LMSTRASGVSDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGT
KLEIK

SEQ ID 25: Construcción humanizada 2A10 VL L18
DIVMTQDPLSNPVTLGQPVSISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPGQSPQLLIY
LMSTRASGVSDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGT
KLEIK

SEQ ID 26: Construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H5

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWM
HWVRQAPGQGLEWMGNINPSNGGTNYNEKFKSRVTMTRDTSTSTAYMELSSL
RSEDTAVYYCELGQGYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAELAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD
ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 27: Construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H6

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWM
HWVRQAPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSRATMTRDTSTSTAYMELSSL
RSEDTAVYYCELGQGYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAELAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD
ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 28: Construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H700

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWM
HWVRQAPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSRATLTVDKSTSTAYMELSSLR
SEDTAVYYCELGQGYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAELAGAPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 29: Construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H14

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWM
HWVKQAPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSRATLTRDTSTSTAYMELSSLR
SEDTAVYYCELGQGYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAELAGAPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 30: 2A10. Construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H15

MGWSCIIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWM
HWVKQRPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATLTVDTSSSTAYMELSSLR
SEDSAVYYCELGGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 31: Construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H16

MGWSCIIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWM
HWVKQRPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATLTVDKSTSTAYMELSSLR
SEDTAVYYCELGGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 32: Construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H17

MGWSCIIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWM
HWVKQRPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATLTVDKSTSTAYMELSSLR
SEDTAVYYCELGGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 33: Construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H18

MGWSCIIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWM
HWVKQRPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMELSSLR
SEDSAVYYCELGGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE

LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 34: Construcción humanizada de cadena ligera 2A10 L6

MGWSCIILFLVATATGVHSDIVMTQSPLSLPVTGEPASISCRSSKSLLYKDGKT
YLNWFLQRPQGQSPQLLIYLMSTRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG
VYYCQQLVEYPLTFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVY
ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID 35: Construcción humanizada de cadena ligera 2A10 L13

MGWSCIILFLVATATGVHSDIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKT
YLNWFQQRPGQSPQLLIYLMSTRASGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVG
VYYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVY
ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID 36: Construcción humanizada de cadena ligera 2A10 L14

MGWSCIILFLVATATGVHSDIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKT
YLNWFLQRPQGQSPQLLIYLMSTRASGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVG
VYYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVY
ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID 37: Construcción humanizada de cadena ligera 2A10 L15

MGWSCIILFLVATATGVHSDIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKT
YLNWFLQRPQGQSPQLLIYLMSTRASGVSDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVG
VYYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVY
ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID 38: Construcción humanizada de cadena ligera 2A10 L16

MGWSCIILFLVATATGVHSDIVMTQSPLSNPVTLGQPVSISCRSSKSLLYKDGKT
YLNWFLQRPQGQSPQLLIYLMSTRASGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVG
VYYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVY
ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID 39: Construcción humanizada de cadena ligera 2A10 L17

MGWSCIILFLVATATGVHSDIVMTQDPLSLPVTGQPASISCRSSKSLLYKDGKT
YLNWFQQRPGQSPQLLIYLMSTRASGVSDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG
VYYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVY
ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID 40: Construcción humanizada de cadena ligera 2A10 L18

MGWSCIILFLVATATGVHSDIVMTQDPLSNPVTGQPVSISCRSSKSLLYKDGKT
YLNWFLQRPQGQSPQLLIYLMSTRASGVSDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG
VYYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVY
ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID 41: PN que codifica SEQ ID:7 de 2A10, VH (murino)

CAGGTCCAAGTGCAGCAGCCTGGGACTGAACTGGTGAAGCCTGGGGCTTC
 AGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGAT
 GCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATTGGAATAT
 TAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGCC
 ACACTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGC
 CTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTATTGTGAACTGGGACAGGGCTAC
 TGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID 42: PN que codifica SEQ ID:8 de 2A10, VL (murino)

GATATTGTGATAACCCAGGATGAACTCTCCAATCCTGTCACTTCTGGAGAAT
 CAGTTTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGGAA
 GACATACTTGAATTGGTTTCTGCAGAGACCAGGACAATCTCCTCAGCTCCTG
 ATCTATTTGATGTCCACCCGTGCATCAGGAGTCTCAGACCGGTTTAGTGGCA
 GTGGGTGAGAACAGATTTACCCTGGAAATCAGTAGAGTGAAGGCTGAGG
 ATGTGGGTGTGTACTGTCAACAACCTGTAGAGTATCCGCTCACGTTCCG
 TGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

SEQ ID 43: PN que codifica SEQ ID: 9 de cadena pesada quimérica Hc

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTTTTGGTAGCAGCAGCTACAGGTGTCC
 ACTCCCAGGTCCAAGTGCAGCAGCCTGGGACTGAACTGGTGAAGCCTGGG
 GCTTCAGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGCTACT
 GGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATTGGA
 AATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCA
 AGGCCACACTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCA
 GCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTATTGTGAACTGGGACAGG
 GCTACTGGGGCCAAGGCACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGG
 GCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGC
 ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC
 GGTGTCGTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACCTTCCCGG
 CTGTCCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGC
 CCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGC
 CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAA
 CTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGCACCGTCA
 GTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACC
 CCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT
 CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA
 GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCA
 CCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT
 CCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAG

GGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAG
 CTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC
 AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTA
 CAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAG
 CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCAT
 GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCT
 CCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID 44: PN que codifica SEQ ID: 10 de cadena quimérica ligera Lc

ATGAGGTGCTCTCTTĈAGTTTCTĜGGGGTGCTTATGTTCTGGATCTCTGGAG
TCAGTGGGGATATTGTGATAACCCAGGATGAACTCTCCAATCCTGTCACTTC
TGGAGAATCAGTTTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAG
GATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCTGCAGAGACCAGGACAATCTCCTC
AGCTCCTGATCTATTTGATGTCCACCCGTGCATCAGGAGTCTCAGACCGGTT
TAGTGGCAGTGGGTGAGAACAGATTTACCCTGGAAATCAGTAGAGTGAA
GGCTGAGGATGTGGGTGTGTATTACTGTCAACAACCTTGTAGAGTATCCGCTC
ACGTTCCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAACGTACGGTGGCTGCACC
ATCTGTCTTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCC
TCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGT
GGAAGGTGGACAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT CACA
GAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCT
GAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA
TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGT CACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTA
G

SEQ ID 45: PN que codifica SEQ ID: 11 de construcción humanizaa 2A10 VH H5

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTTTCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGAT
GCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAATA
TTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGT
CACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCA
GCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGGGCT
ACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID 46: PN que codifica SEQ ID: 12 de construcción humanizada 2A10 VH H6

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTTTCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGAT
GCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATA
TTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGC
CACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCA
GCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGGGCT
ACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID 47: PN que codifica SEQ ID: 13 de construcción humanizada 2A10 VH H700

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTTTCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGAT
GCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATA
TTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGC
CACCTGACCGTAGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAG
CCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGGGCTA
CTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID 48: PN que codifica SEQ: ID 14 de construcción humanizada 2A10 VH H14
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGGTCAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGCTCTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGAT
GCACTGGGTGAAACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATAT
TAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGCC
ACCCTCACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAG
CCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGGGCTA
CTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID 49: PN que codifica SEQ ID: 15 de construcción humanizada 2A10 H15
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGGTCAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGCTCTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGAT
GCACTGGGTGAAACAGCGACCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATAT
TAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAAGCC
ACCCTCACCGTCGACACGTCCAGCAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAG
CCTGAGATCTGAGGACAGCGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGGGCTA
CTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID 50: PN que codifica SEQ ID: 16 de construcción humanizada 2A10 VH H16
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTTTCTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGAT
GCACTGGGTGAAACAGCGACCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATAT
TAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAAGCC
ACCCTCACCGTCGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGC
CTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGGGCTAC
TGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID 51: PN que codifica SEQ ID: 17 de construcción humanizada 2A10 VH H17
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGGTCAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGCTCTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGAT
GCACTGGGTGAAACAGCGACCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATAT
TAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAAGCC
ACCCTCACCGTCGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGC
CTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGGGCTAC
TGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID 52: PN que codifica SEQ ID: 18 de construcción humanizada 2A10 VH H18

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGGTCAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGCTCTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGAT
GCACTGGGTGAAACAGCGACCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATAT
TAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAAGCC
ACCCTCACCGTCGACAAATCCAGCAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGC
CTGAGATCTGAGGACAGCGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGGGCTAC
TGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID 53: PN que codifica SEQ ID: 19 de construcción humanizada 2A10 VL L6

GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAG
CCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGG
AAGACATACTTGAATTGGTTCTCCTGCAGCGACCAGGGCAGTCTCCACAGCTC
CTGATCTATTTGATGTCCACCCGTGCATCAGGGGTCCCTGACAGGTTTCAGT
GGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCT
GAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCTCACGT
TCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

SEQ ID 54: PN que codifica SEQ ID: 20 de construcción humanizada 2A10 VL L13

GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCTTGGACAG
CCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGG
AAGACATACTTGAATTGGTTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCACAGCTC
CTAATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCCAGACAGATTCAGCG
GCGGTGGGTCAGGCACTGATTTCACTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCT
GAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCTCACGT
TTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

SEQ ID 55: PN que codifica SEQ ID: 21 de construcción humanizada 2A10 VL L14

GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCTTGGACAG
CCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGG
AAGACATACTTGAATTGGTTTCTCCAGAGGCCAGGCCAATCTCCACAGCTCC
TAATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCCAGACAGATTCAGCGG
CGGTGGGTCAGGCACTGATTTCACTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGA
GGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCTCACGTTT
GGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

SEQ ID 56: PN que codifica SEQ ID: 22 de construcción humanizada 2A10 VL L15

GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCTTGGACAG
CCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGG
AAGACATACTTGAATTGGTTTCTCCAGAGGCCAGGCCAATCTCCACAGCTCC
TAATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCAGCAGAGATTCAGCGG
CGGTGGGTCAGGCACTGATTTCACTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGA
GGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCTCACGTTT
GGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

SEQ ID 57: PN que codifica SEQ ID: 23 de construcción humanizada 2A10VL L16

GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCAACCCCGTCACCCTTGGACAG
CCGGTCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGGA
AGACATACTTGAATTGGTTTCTCCAGAGGCCAGGCCAATCTCCACAGCTCCT
AATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCCAGACAGATTCAGCGG
CGGTGGGTCAGGCACTGATTTCACTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGA
GGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCTCACGTTT
GGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

SEQ ID 58: PN que codifica SEQ ID: 24 de construcción humanizada 2A10 VL L17
GATATTGTGATGACCCAGGACCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCTTGGACAG
CCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGG
AAGACATACTTGAATTGGTTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCACAGCTC
CTAATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCAGCGACAGATTCAGCG
GCAGCGGGTCAGGCACTGATTTCACACTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCT
GAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCTCACGT
TTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

SEQ ID 59: PN que codifica SEQ ID: 25 de construcción humanizada 2A10 VL L18
GATATTGTGATGACCCAGGACCCACTCTCCAACCCCGTCACCCTTGGACAG
CCGGTCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGGA
AGACATACTTGAATTGGTTTCTCCAGAGGCCAGGCCAATCTCCACAGCTCCT
AATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCAGCGACAGATTCAGCGG
CAGCGGGTCAGGCACTGATTTCACACTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGA
GGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCTCACGTT
GGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

SEQ ID 60: PN que codifica SEQ ID: 26 de construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H5

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG
GCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTACCAGCTACT
GGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGA
AATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCA
GAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTG
AGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAG
GGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAG
GGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGA
CGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCG
GCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG
CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG
CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA
ACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGCACCGTC
AGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC
CCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGG
TCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA
AGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTC

ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC
TCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA
GGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGA
GCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC
CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA
ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACA
GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA
TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID 61: PN que codifica SEQ ID: 27 de construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H6

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG
GCCTCAGTGAAGGTTTCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTACCAGCTACT
GGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGA
AATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACAATGAGAAGTTCAAGAGCA
GAGCCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTG
AGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAG
GGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAG
GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGA
CGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCG
GCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCCTG
CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG
CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA
ACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGCACCGTC
AGTCTTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC
CCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGG
TCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA
AGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC
ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC
TCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA
GGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGA
GCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC
CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA
ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACA
GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA
TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID 62: PN que codifica SEQ ID: 28 de construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H700

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
 ACTCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG
 GCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACT
 GGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGA
 AATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGCA
 GAGCCACCCTGACCGTAGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGA
 GCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGG
 GCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGG
 GCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGC
 ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC
 GGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGG
 CTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGC
 CCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGC
 CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAA
 CTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGGCACCGTCA
 GTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACC
 CCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT
 CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA
 GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCA
 CCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT
 CCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAG
 GGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAG
 CTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC
 AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAATA
 CAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAG
 CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCAT
 GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCT
 CCCTGTCTCCGGGTAATGA

SEQ ID 63: PN que codifica SEQ ID: 29 de construcción humanizada de cadena pesada
 2A10 H14

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
 ACTCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGGTCAAGCCTGGG
 GCCTCAGTGAAGCTCTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTAC
 TGGATGCACTGGGTGAAACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGG
 AAATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGC
 AGAGCCACCCTCACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCT
 GAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACA
 GGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAA
 GGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGG
 GCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTG
 ACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC
 GGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT
 GCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAA
 GCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAA
 AACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGGCACCGT
 CAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA
 CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG

GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA
AAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCT
CACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGT
CTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAA
AGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATG
AGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC
CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC
TACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTAC
AGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCT
CTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID 64: PN que codifica SEQ ID: 30 de construcción humanizada de cadena pesada
2A10 H15

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGGTCAAGCCTGGG
GCCTCAGTGAAGCTCTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTACCAGCTAC
TGGATGCACTGGGTGAAACAGCGACCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGG
AAATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGC
AAAGCCACCCTCACCGTCGACACGTCCAGCAGCACAGCCTACATGGAGCTG
AGCAGCCTGAGATCTGAGGACAGCGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAG
GGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAG
GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGA
CGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCG
GCTGTCCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG
CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG
CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA
ACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGCACCGTC
AGTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC
CCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGG
TCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA
AGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGGTCCTC
ACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTC
TCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAA
GGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGATGA
GCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC
CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC
ACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACA
GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA
TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID 65: PN que codifica SEQ ID: 31 de construcción humanizada de cadena pesada
2A10 H16

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG

GCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACT
GGATGCACTGGGTGAAACAGCGACCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGA
AATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCA
AAGCCACCCTCACCGTCGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGA
GCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGG
GCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGG
GCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGC
ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC
GGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGG
CTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGC
CCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGC
CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA
CTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGGCACCGTCA
GTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACC
CCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT
CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA
GCCGCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCA
CCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT
CCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAG
GGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAG
CTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC
AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAATA
CAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAG
CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCAT
GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCT
CCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID 66: PN que codifica SEQ ID: 32 de construcción humanizada de cadena pesada
2A10 H17

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGGTCAAGCCTGGG
GCCTCAGTGAAGCTCTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTAC
TGGATGCACTGGGTGAAACAGCGACCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGG
AATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGC
AAAGCCACCCTCACCGTCGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTG
AGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAG
GGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAG
GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGA
CGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCG
GCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGC
CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG
CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA
ACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGGCACCGTCA
AGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC
CCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGG
TCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA
AGCCGCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC

ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC
TCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA
GGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGA
GCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC
CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA
ACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACA
GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA
TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID 67: PN que codifica SEQ ID: 33 de construcción humanizada de cadena pesada
2A10 H18

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGGTCAAGCCTGGG
GCCTCAGTGAAGCTCTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTAC
TGGATGCACTGGGTGAAACAGCGACCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGG
AAATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACAATGAGAAGTTCAAGAGC
AAAGCCACCCTCACCGTCGACAAATCCAGCAGCACAGCCTACATGGAGCTG
AGCAGCCTGAGATCTGAGGACAGCGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAG
GGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAG
GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGA
CGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCG
GCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG
CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG
CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA
ACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGCACCGTC
AGTCTTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC
CCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGG
TCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA
AGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC
ACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC
TCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA
GGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGA
GCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC
CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA
ACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACA
GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA
TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID 68: PN que codifica SEA ID: 34 de construcción humanizada de cadena ligera
2A10 L6

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCGATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGG
AGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGAT
GGGAAGACATACTTGAATTGGTTCTGACGCGACCAGGGCAGTCTCCACAG
CTCCTGATCTATTTGATGTCCACCCGTGCATCAGGGGTCCCTGACAGGTTCA

GTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGG
CTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCTCAC
GTTCCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCAT
CTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTC
TGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGG
AAGGTGGACAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACACAGAG
CAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCA
GGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

SEQ ID 69: que codifica SEQ ID: 35 de construcción humanizada de cadena ligera 2A10 L13

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCGATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTTGG
ACAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGAT
GGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCAGCAGAGGGCCAGGCCAATCTCCACAG
CTCCTAATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCCAGACAGATTCA
GCGGCGGTGGGTGAGGCACTGATTTCACTGAAAATCAGCAGGGTGGAG
GCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCTCA
CGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCA
TCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCT
CTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTG
GAAGGTGGACAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACACAGA
GCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATC
AGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

SEQ ID 70: PN que codifica SEQ ID: 36 de construcción humanizada de cadena ligera 2A10 L14

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCGATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTTGG
ACAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGAT
GGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCTCCAGAGGGCCAGGCCAATCTCCACAG
CTCCTAATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCCAGACAGATTCA
GCGGCGGTGGGTGAGGCACTGATTTCACTGAAAATCAGCAGGGTGGAG
GCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCTCA
CGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCA
TCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCT
CTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTG
GAAGGTGGACAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACACAGA
GCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATC
AGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

SEQ ID 71: PN que codifica SEQ ID: 37 de construcción humanizada de cadena ligera 2A10 L15

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCGATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTTGG
ACAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGAT
GGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCTCCAGAGGGCCAGGCCAATCTCCACAG

CTCCTAATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCAGCGACAGATTCA
GCGGCGGTGGGTCAGGCACTGATTTCACTGAAAATCAGCAGGGTGGAG
GCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCTCA
CGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCA
TCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCT
CTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTG
GAAGGTGGACAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACACAGA
GCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATC
AGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

SEQ ID 72: PN que codifica SEQ ID: 38 de construcción humanizada de cadena ligera 2A10 L16
ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCGATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCAACCCCGTCACCCTTGG
ACAGCCGGTCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGAT
GGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCTCCAGAGGCCAGGCCAATCTCCACAG
CTCCTAATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCCAGACAGATTCA
GCGGCGGTGGGTCAGGCACTGATTTCACTGAAAATCAGCAGGGTGGAG
GCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCTCA
CGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCA
TCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCT
CTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTG
GAAGGTGGACAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACACAGA
GCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATC
AGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

SEQ ID 73: PN que codifica SEQ ID: 39 de construcción humanizada de cadena ligera 2A10 L17
ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCGATATTGTGATGACCCAGGACCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCTTG
GACAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGG
ATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCAAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCAC
AGCTCCTAATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCAGCGACAGATT
CAGCGGCAGCGGGTCAGGCACTGATTTCACTGAAAATCAGCAGGGTGG
AGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCT
CACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCAC
CATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGC
CTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAG
TGGAAGGTGGACAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACACA
GAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCT
GAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA
TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTA
G

SEQ ID 74: PN que codifica SEQ ID: 40 de construcción humanizada de cadena ligera 2A10 L18
ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCGATATTGTGATGACCCAGGACCCACTCTCCAACCCCGTCACCCTTG

GACAGCCGGTCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGA
TGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCTCCAGAGGCCAGGCCAATCTCCACA
GCTCCTAATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCAGCGACAGATTC
AGCGGCAGCGGGTCAGGCACTGATTTCACTGAAAATCAGCAGGGTGGA
GGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACCTTGTAGAGTATCCGCTC
ACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACC
ATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTCC
TCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGT
GGAAGGTGGACAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACACA
GAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCT
GAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTACCCA
TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTA
G

[0121] SEQ ID 75: Secuencia líder Campath
MGWSCIIILFLVATATGVHS

SEQ ID 76: Amioácidos 586-785 de NOGO A humano (NOGO-A56)

MQESLYPAAQLCPSFEESEATPSPVLPDIVMEAPLNSAVPSAGASVIQPSSSPL
EASSVNYESIKHEPENPPPYEEAMSVSLKKVSGIKKEIKEPENINAALQETEAPYI
SIACDLIKETKLSAEPAPDFSDYSEMAKVEQPVPDHSELVEDSSPDSEPVDLFS
DDSIPDVPQKQDETVMMLVKESLTETSFESMIEYENKE

SEQ ID 77: Construcción humanizada 3A10 VH H1

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNI
NPSNGGTNYNEKFKSRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCELGQGYW
GQGLTVTVSS

SEQ ID 78: Construcción humanizada 2A10 VI L11

DIVITQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFQQRPGQSPQLLIYL
MSTRASGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTK
LEIK

SEQ ID 79: Construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H1

MGWSCIIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWM
HWVRQAPGQGLEWMGNINPSNGGTNYNEKFKSRVTMTRDTSTSTVYMELSSL
RSEDTAVYYCELGQGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD
ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 80: 2A10 Construcción humanizada de cadena ligera 2A10 L11

MGWSCILFLVATATGVHSDIVITQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTY
LNWFQQRPGQSPQLLIYLMSTRASGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGV
YYCQQLVEYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFY
PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYA
CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID 81: PN que codifica SEQ ID:77 de construcción humanizada 2A10 VH H1
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTTTCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGAT
GCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAATA
TTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGT
CACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCA
GCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGGGCT
ACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID 82: PN que codifica SEQ ID: 78 de construcción humanizada 2A10 VL L11
GATATTGTGATAACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCTTGGACAGC
CGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGGA
AGACATACTTGAATTGGTTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCACAGCTCCT
AATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCCAGACAGATTCAGCGG
CGGTGGGTGAGGCACTGATTTCACTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGA
GGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCTCACGTTT
GGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAA

SEQ ID 83: PN que codifica SEQ ID: 79 de cadena pesada humanizada 2A10 H1
ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG
GCCTCAGTGAAGGTTTCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACT
GGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGA
AATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCA
GAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGA
GCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGG
GCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGG
GCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGC
ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC
GGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGG
CTGTCCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGC
CCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGC
CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAA
CTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGGCACCGTCA
GTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACC
CCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT
CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA
GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCA
CCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCT
CCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAG
GGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAG

CTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC
AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAATA
CAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAG
CAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCAT
GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCT
CCCTGTCTCCGGGTAATGA

SEQ ID 84: PN que codifica SEQ ID: 90 de construcción de cadena ligera humanizada 2A10 L11
ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCGATATTGTGATAACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCAACCTTGG
ACAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGAT
GGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCACAG
CTCCTAATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCCAGACAGATTCA
GCGGCGGTGGGTGAGGCACTGATTTCACTGAAAATCAGCAGGGTGGAG
GCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACCTTGTAGAGTATCCGCTCA
CGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCA
TCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCT
CTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTG
GAAGGTGGACAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGA
GCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATC
AGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

SEQ ID 85: Construcción humanizada 2A10 VH H19

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVRQRPGQGLEWIGNIN
PSNGGTNYNEKFKSRATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGQGYWG
QGTLVTVSS

SEQ ID 86: Construcción humanizada 2A10 VH H20

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNIN
PSNGGTNYNEKFKSKATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGQGYWG
QGTLVTVSS

SEQ ID 87: Construcción humanizada 2A10 VH H21

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVRQRPGQGLEWIGNIN
PSNGGTNYNEKFKSKATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGQGYWG
QGTLVTVSS

SEQ ID 88: Construcción humanizada 2A10 VH H22

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIN
PSNGGTNYNEKFKSKATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGQGYWG
QGTLVTVSS

SEQ ID 89: Construcción humanizada 2A10 VH H23

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIN
PSNGGTNYNEKFKSKATMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGQGYWG
QGTLVTVSS

SEQ ID 90: Construcción humanizada 2A10 VH H24

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIN
PSNGGTNYNEKFKSKATLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGQGYWG
QGTLVTVSS

SEQ ID 91: Construcción humanizada 2A10 VH H25

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVRQRPGQGLEWMGNI
NPSNGGTNYNEKFKSRVTMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGQGYW
GGTLVTVSS

SEQ ID 92: Construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H19

MGWSCIIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWM
HWVRQRPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSRATMTRDTSTSTAYMELSSL
RSEDTAVYYCELGQGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD
ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 93: Construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H20

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWM
HWVRQAPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATMTRDTSTSTAYMELSSLR
SEDTAVYYCELGGQYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 94: Construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H21

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWM
HWVRQAPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATMTRDTSTSTAYMELSSLR
RSEDTAVYYCELGGQYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD
ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 95: Construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H22

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWM
HWVKQAPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATMTRDTSTSTAYMELSSLR
SEDTAVYYCELGGQYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 96: Construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H23

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWM
HWVKQAPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATMTVDTSTSTAYMELSSLR
SEDTAVYYCELGGQYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 97: Construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H24

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWM
HWVKQRPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATLTVDTSTSTAYMELSSLR
SEDTAVYYCELGQGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 98: Construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H25

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWM
HWVRQRPGQGLEWMGNINPSNGGTNYNEKFKSRVTMTRDTSTSTAYMELSSL
RSEDTAVYYCELGQGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD
ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 99: PN que codifica SEQ ID: 85 de construcción humanizada 2A10 VH H19

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGAT
GCACTGGGTGCGACAGAGGCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATA
TTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGC
CACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCA
GCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGGGCT
ACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID 100: PN que codifica SEQ ID: 86 de construcción humanizada 2A10 VH H20

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGAT
GCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATA
TTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGC
CACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCA
GCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGGGCT
ACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID 101: PN que codifica SEE ID: 87 de construcción humanizada 2A10 VH H21
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGAT
GCACTGGGTGCGACAGAGGCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATA
TTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGC
CACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCA
GCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGGGCT
ACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID 102: PN que codifica SEQ ID: 88 de construcción humanizada 2A10 VH H22
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGAT
GCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATA
TTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGC
CACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCA
GCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGGGCT
ACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID 103: PN que codifica SEQ ID: 89 de construcción humanizada 2A10 VH H23
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGAT
GCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATA
TTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGC
CACCATGACCGTAGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAG
CCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGGGCTA
CTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID 104: PN que codifica SE ID: 90 de construcción humanizada 2A10 VH H24

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGAT
GCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATA
TTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGC
CACCTGACCGTAGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCA
GCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGGGCT
ACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID 105: PN que codifica SEQ ID: 91 de construcción humanizada 2A10 VH H25
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGAT
GCACTGGGTGCGACAGAGGCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAATA
TTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGT
CACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCA
GCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGGGCT
ACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID 106: PN que codifica SEQ ID: 92 de construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H19

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG
GCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACT
GGATGCACTGGGTGCGACAGAGGCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGA
AATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCA
GAGCCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTG
AGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAG
GGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAG
GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGA
CGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCG
GCTGTCCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG
CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG
CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA
ACTCACACATGCCACCCGTGCCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGCACCGTC
AGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC
CCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGG
TCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA
AGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC
ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC
TCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA
GGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGA
GCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC
CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA
ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACA
GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA
TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID 107: PN que codifica SEQ ID: 93 de construcción humanizada de cadena pesada
2A10 H20

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG
GCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACT
GGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGA
AATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACAATGAGAAGTTCAAGAGCA
AGGCCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTG
AGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAG
GGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAG
GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGA
CGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCG
GCTGTCCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG
CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG
CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA
ACTCACACATGCCACCGTGCCACGACCTGAACTCGCGGGGGCACCCTG
AGTCTTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC
CCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGG
TCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA
AGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGCGTCTC
ACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC
TCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA
GGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGA
GCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC
CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA
ACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACA
GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA
TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID 108: PN que codifica SEQ ID: 94 de construcción humanizada de cadena pesada
2A10 H21

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG
GCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACT
GGATGCACTGGGTGCGACAGAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGA
AATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACAATGAGAAGTTCAAGAGCA
AGGCCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTG
AGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAG
GGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAG
GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGA
CGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCG
GCTGTCCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG
CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG

CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA
ACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGGCACCGTC
AGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC
CCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGG
TCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA
AGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC
ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC
TCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAA
GGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGA
GCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC
CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA
ACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACA
GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA
TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID 109: PN que codifica SEQ ID: 95 de construcción humanizada de cadena pesada
2A10 H22

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG
GCCTCAGTGAAGGTTTCTTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACT
GGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGGCTTGAAGTGGATCGGA
AATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACAATGAGAAGTTCAAGAGCA
AGGCCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTG
AGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAG
GGCTACTGGGGCCAGGGAACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAG
GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGA
CGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCG
GCTGTCCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAACCGTG
CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG
CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA
ACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGGCACCGTC
AGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC
CCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGG
TCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA
AGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC
ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC
TCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAA
GGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGA
GCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC
CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA
ACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACA
GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA
TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID 110: PN que codifica SEQ ID: 96 de construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H23

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG
GCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACT
GGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGA
AATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCA
AGGCCACCATGACCGTAGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGA
GCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAGG
GCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGG
GCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGC
ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC
GGTGTCTGTTGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGG
CTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGC
CCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGC
CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAA
CTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGCACCGTCA
GTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACC
CCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT
CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA
GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCTCA
CCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT
CCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAG
GGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAG
CTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC
AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAATA
CAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAG
CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCAT
GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCT
CCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID 111: PN que codifica SEQ ID: 97 de construcción humanizada de cadena pesada 2A10 H24

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG
GCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACT
GGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGA
AATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCA
AGGCCACCCTGACCGTAGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTG
AGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAG
GGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAG
GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGA
CGGTGTCTGTTGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCG
GCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGC
CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG
CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA

ACTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGCACCGTC
AGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC
CCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGG
TCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA
AGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC
ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC
TCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAA
GGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGA
GCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC
CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA
ACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACA
GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA
TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID 112: PN que codifica SEQ ID: 98 de construcción humanizada de cadena pesada
.2A10 H25

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCC
ACTCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG
GCCTCAGTGAAGGTTTCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTACCAGCTACT
GGATGCACTGGGTGCGACAGAGGCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGA
AATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCA
GAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTG
AGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACTGGGACAG
GGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAG
GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGA
CGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCG
GCTGTCCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG
CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG
CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA
ACTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGCACCGTC
AGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC
CCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGG
TCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA
AGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC
ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC
TCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAA
GGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGA
GCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC
CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA
ACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACA
GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA
TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

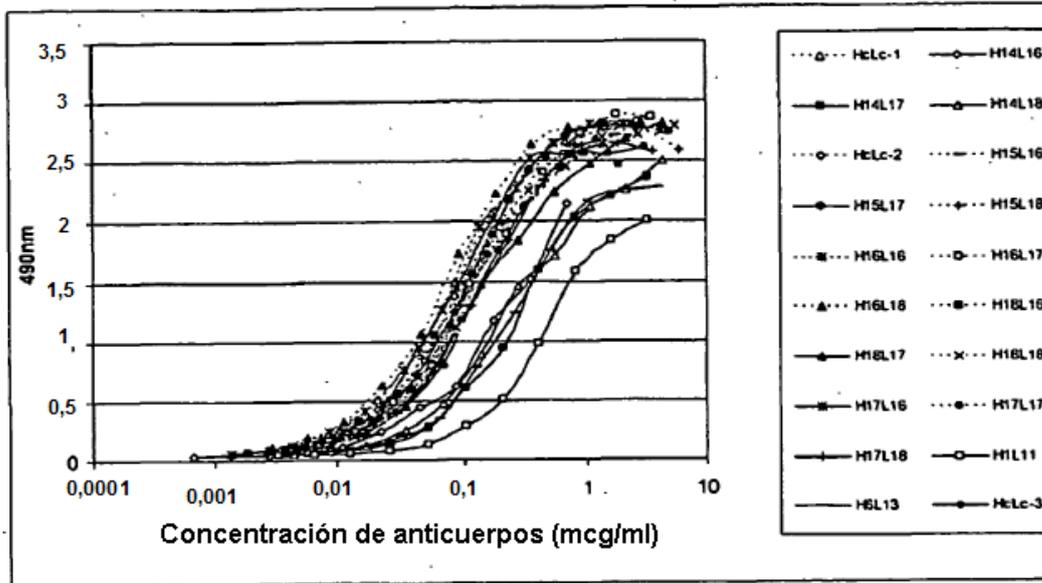
SEQ ID NO.113 – Secuencia de aminoácidos de fragmento de Marmoset NOGO-A
VQDSLCPVAQLCPSFESEATPSPVLPDIVMEAPLNSAVPSAGASAVQPSSSPL
EASSVNFESVKHEPENPPPYEEAMNVSRRKRVSGIKKEIKEPESINA AVQETEAP
YISACDLIKETKLSAEPTPDFSSYSEMAKVEQPLPDHSELVEDSSPDSEPVDLF
SDDSIPDVPQKQDEAVILVKETLTETSFESMIEHENK

REIVINDICACIONES

- 1,- Un anticuerpo monoclonal que se une a NOGO humana y la neutraliza, comprendiendo el anticuerpo una región variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos SEC ID: NO: 86, SEC ID: NO: 88, SEC ID: NO: 89 o SEC ID: NO: 90 y una región de cadena ligera, que tiene una secuencia de aminoácidos de SEC ID: NO: 23 o SEC ID: NO: 25, o una variante correspondiente que comprende un análogo de una región de determinación de complementariedad (CDR) de dicho anticuerpo, en el cual dicha variante mantiene la especificidad de unión y la capacidad de neutralización del anticuerpo del que se deriva,
- 5
- 2,- Un anticuerpo monoclonal según la reivindicación 1, que comprende regiones VH y VL seleccionadas en la siguiente lista H20L16 (SEQ ID 86 + SEQ ID 23), H22L16 (SEQ ID 88 + SEQ ID 23), H23L16 (SEQ ID 89 + SEQ ID 23), H24L16 (SEQ ID 90 + SEQ ID 23), H20L18 (SEQ ID 86 + SEQ ID 25), H22L18 (SEQ ID 88 + SEQ ID 25), H23L18 (SEQ ID 89 + SEQ ID 25), y H24L18 (SEQ ID 90 + SEQ ID 25).
- 10
- 3,- Una célula huésped co-transfectada con un primer y un segundo vectores que codifican las cadenas pesada y ligera, respectivamente, de un anticuerpo según la reivindicación 1 o 2,
- 15
- 4,- Una célula huésped transfectada con un vector que codifica las cadenas pesada y ligera de un anticuerpo según la reivindicación 1 o 2,
- 5,- Un procedimiento de producción de un anticuerpo según la reivindicación 1 o 2, que comprende la etapa de cultivar una célula huésped según la reivindicación 3 o 4, y en recuperar el anticuerpo así producido,
- 6,- Un anticuerpo según la reivindicación 1 o 2 producido por el procedimiento de la reivindicación 5,
- 20
- 7,- Composiciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo anti-NOGO o un fragmento funcional correspondiente, según las reivindicaciones 1, 2 o 6 junto con un diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable,
- 8,- Un anticuerpo según la reivindicación 1, 2 o 6 para su uso en el tratamiento o la profilaxis de un paciente humano,

Figura 1 - Unión de ELISA

A.



B.

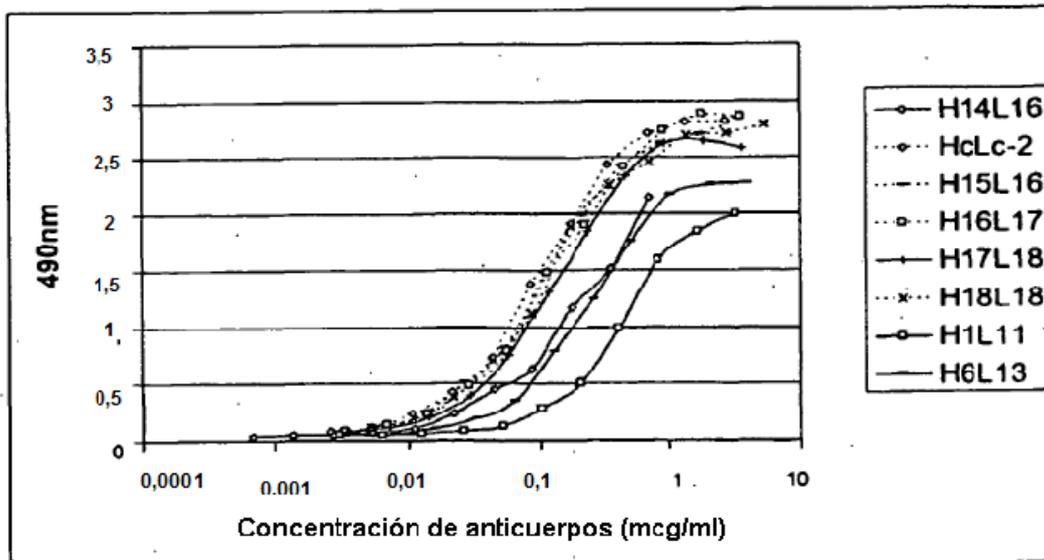
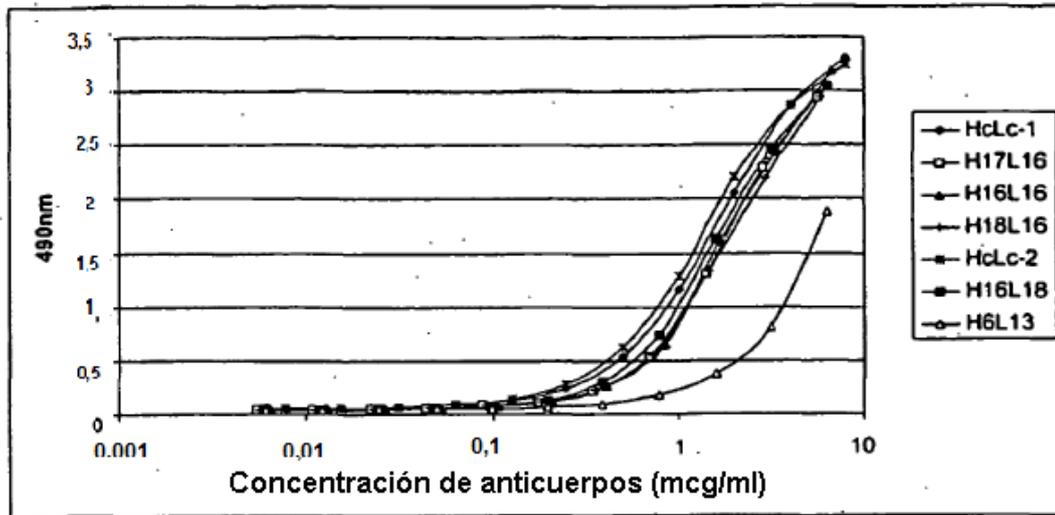


Figura 2

A



B

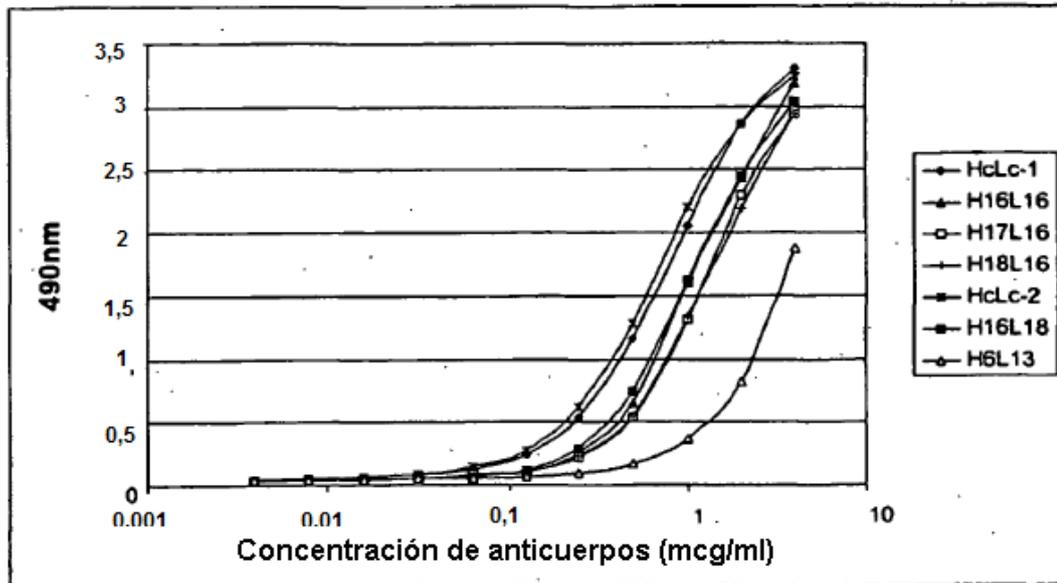
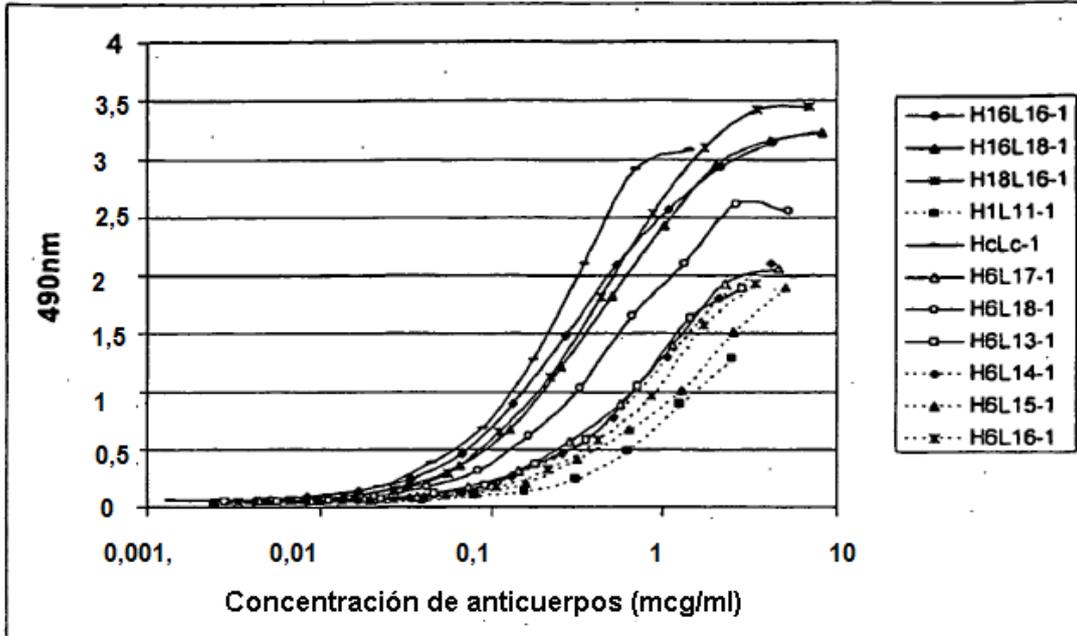


Figura 3 - Ejemplos de NOGO que se unen a ELISA (Material sobrenadante)

A. Conjunto de muestras 1



B. Conjunto de muestras 2

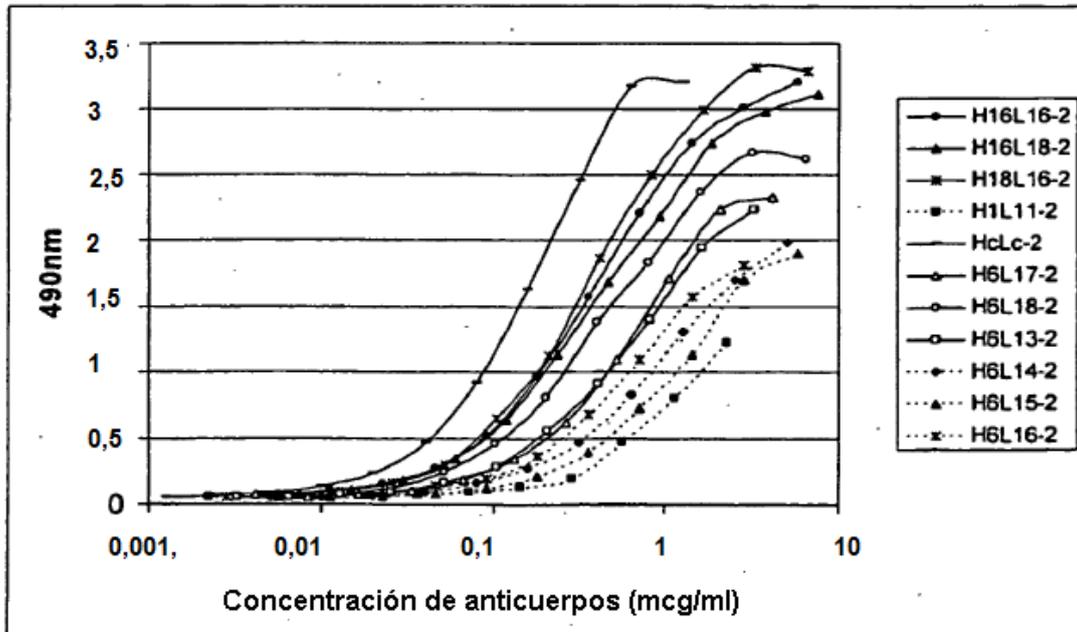
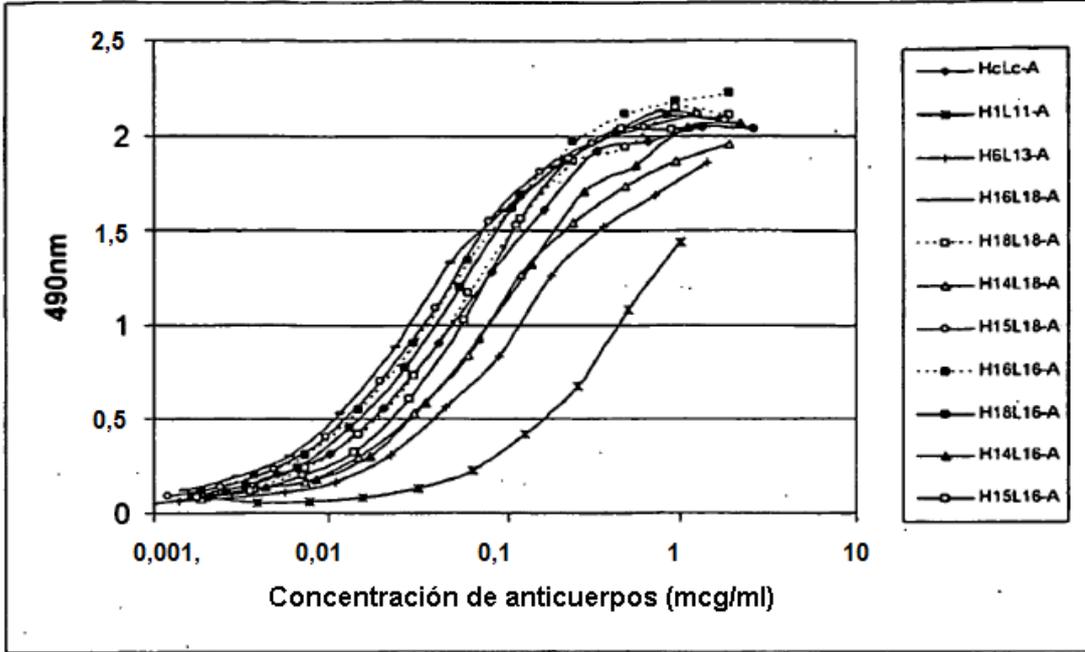


Figura 4 - Ejemplos de NOGO que se unen a ELISA - Material sobrenadante

A. Conjunto de muestras A



B. Conjunto de muestras B

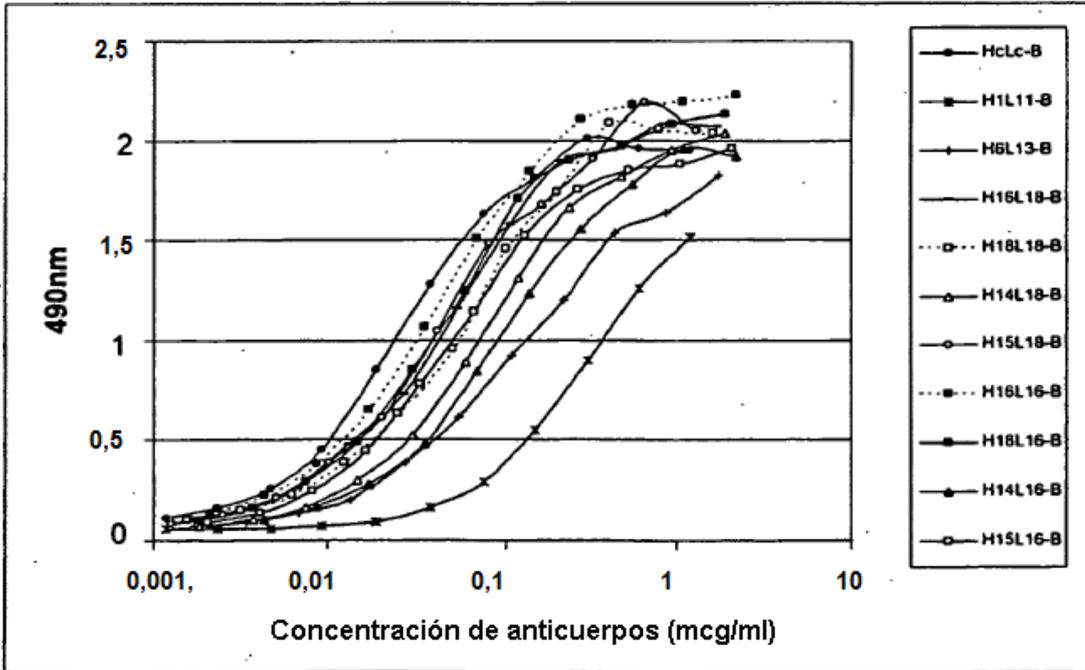
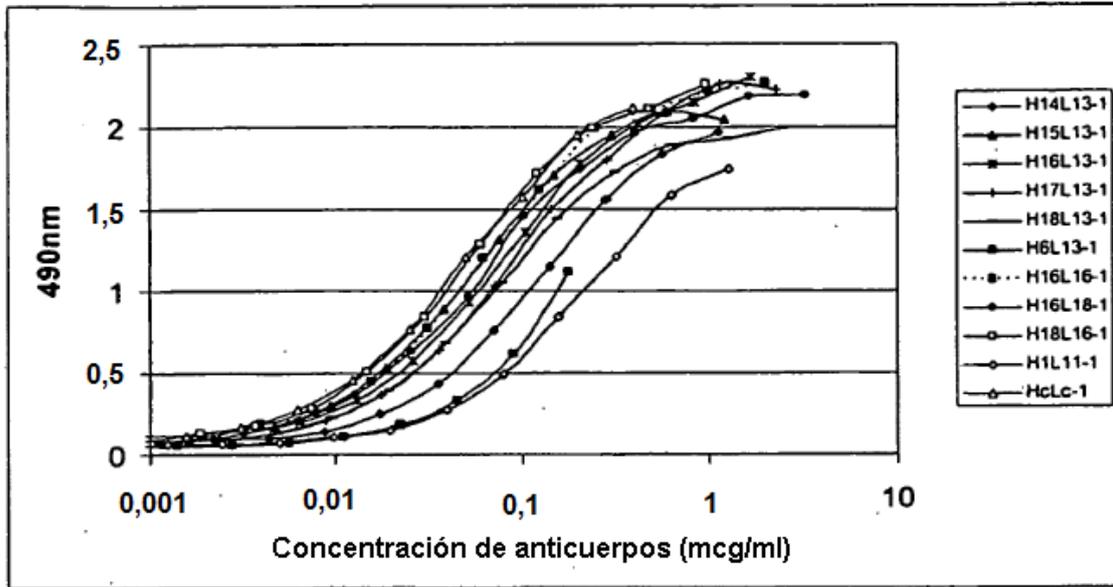


Figura 5 - Ejemplos de NOGO que se unen a ELISA - Material sobrenadante

A. conjunto de muestras 1



B. Conjunto de muestras 2

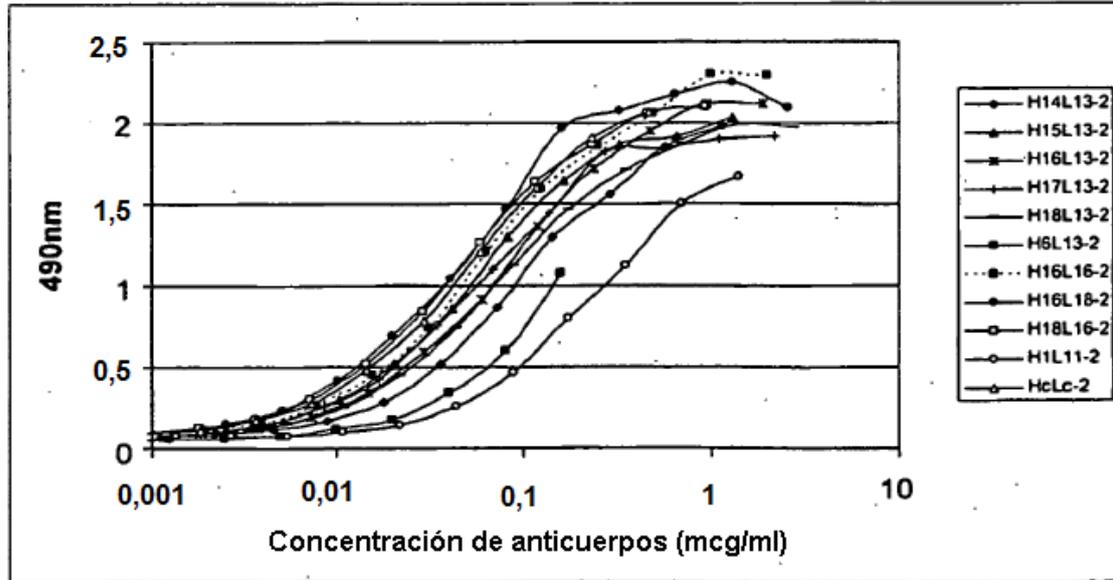
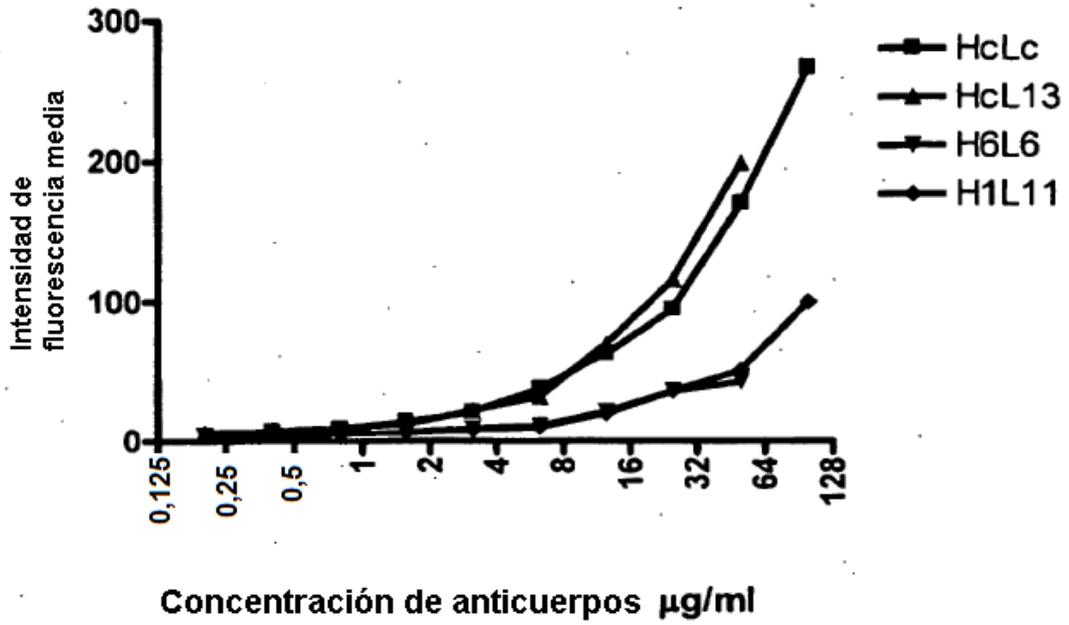


Figura 6 - Ejemplos de datos de FACS para anticuerpos humanizados anti-NOGO

A.



B.

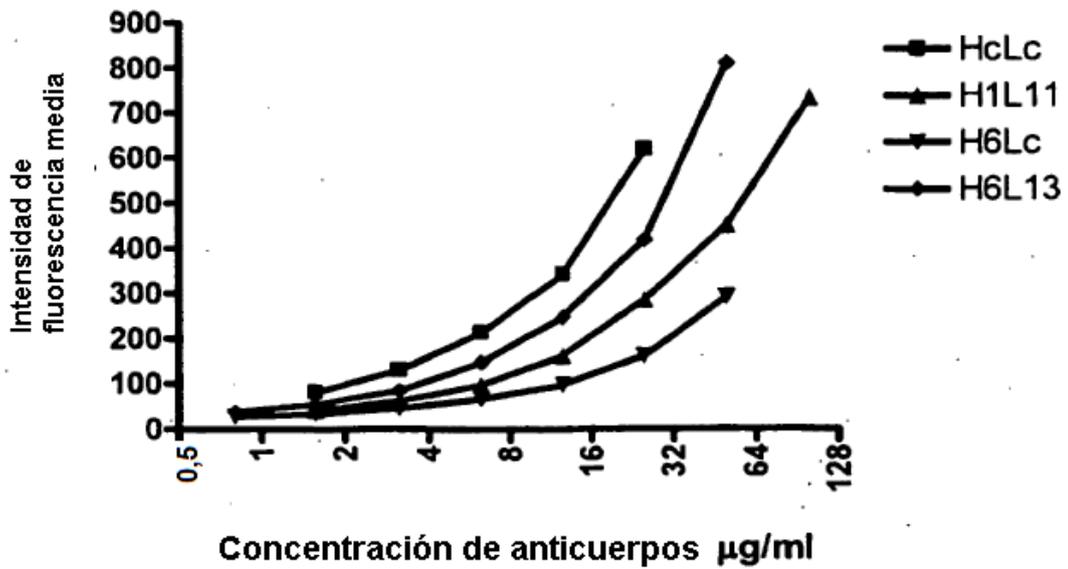
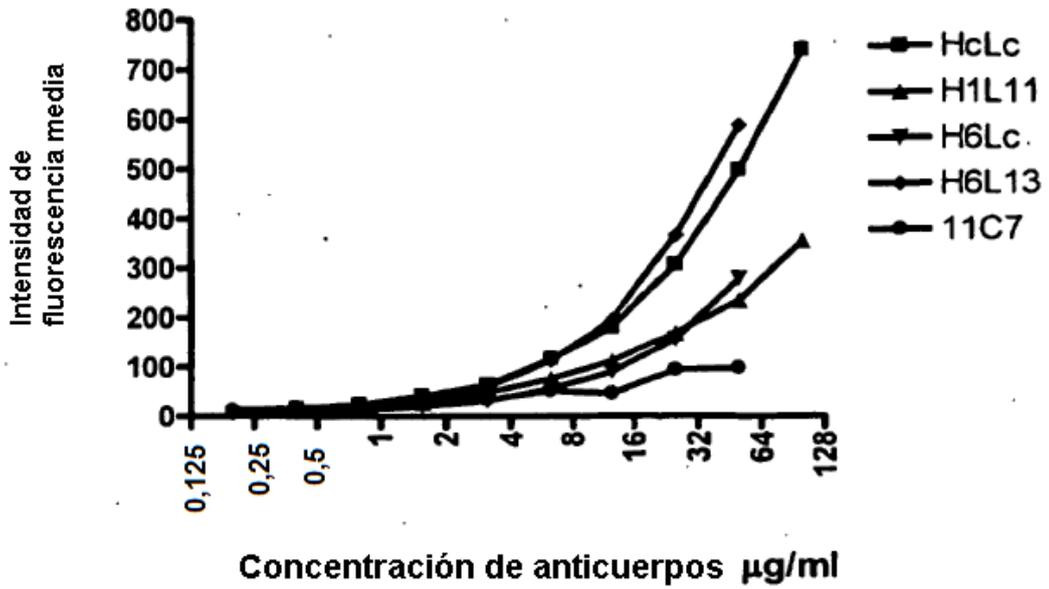


Figura 6C



D.

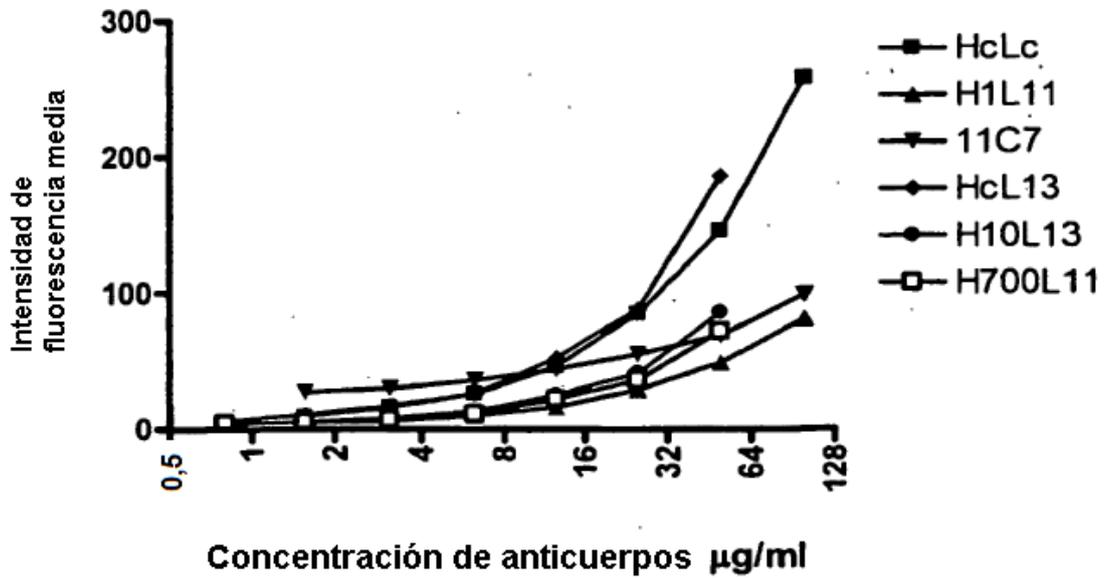
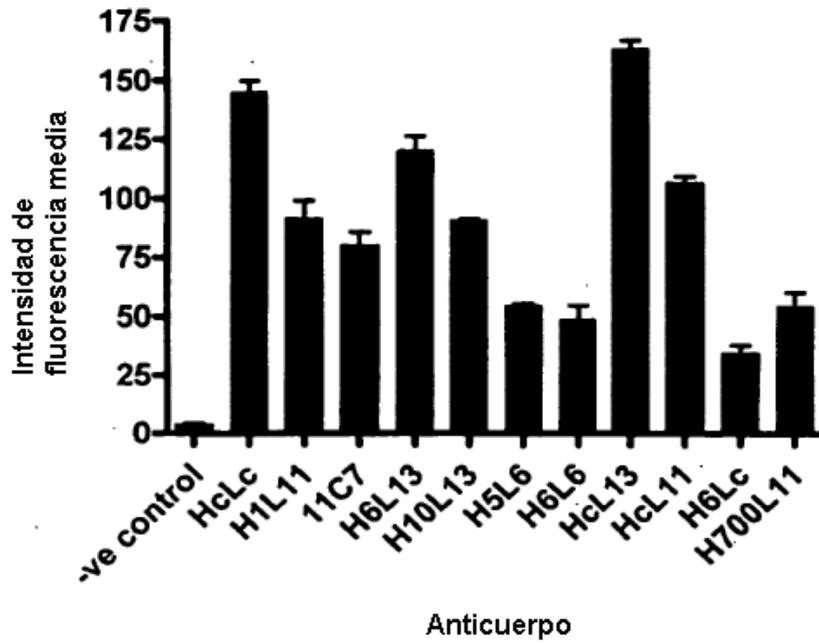


Figura 6 E



F.

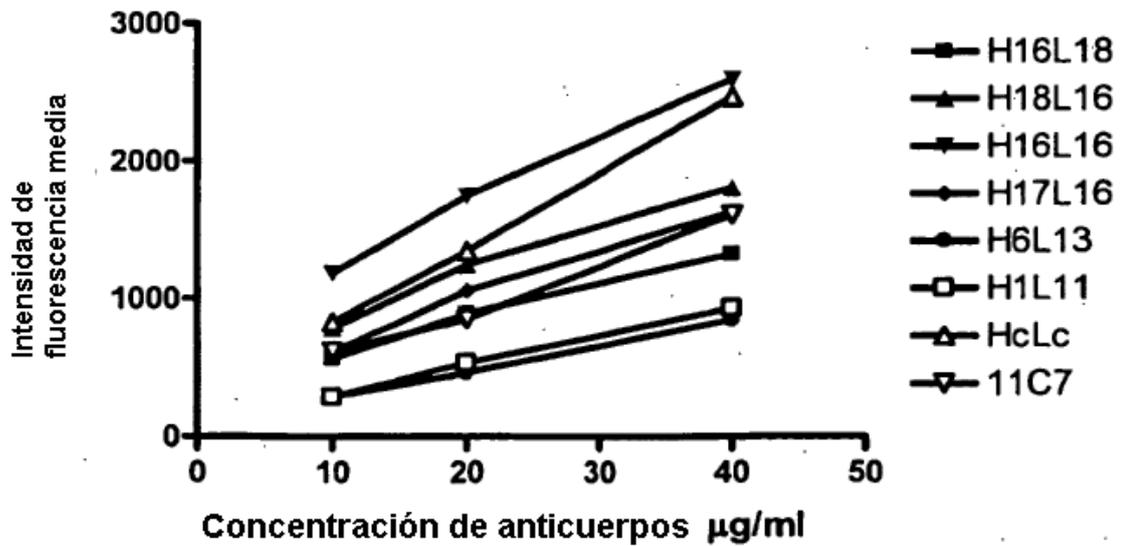
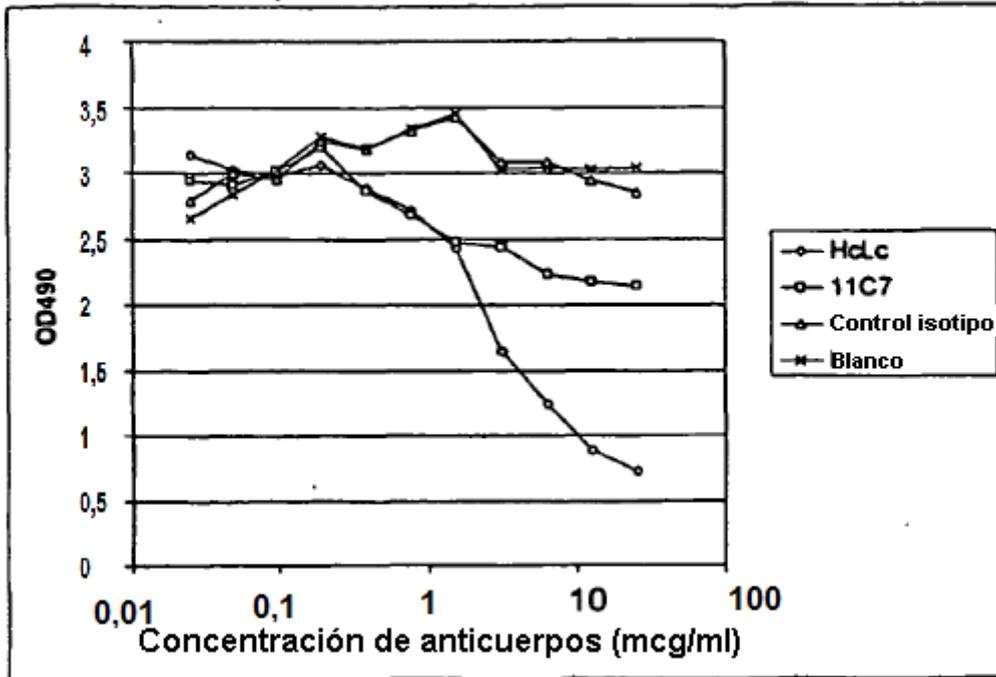
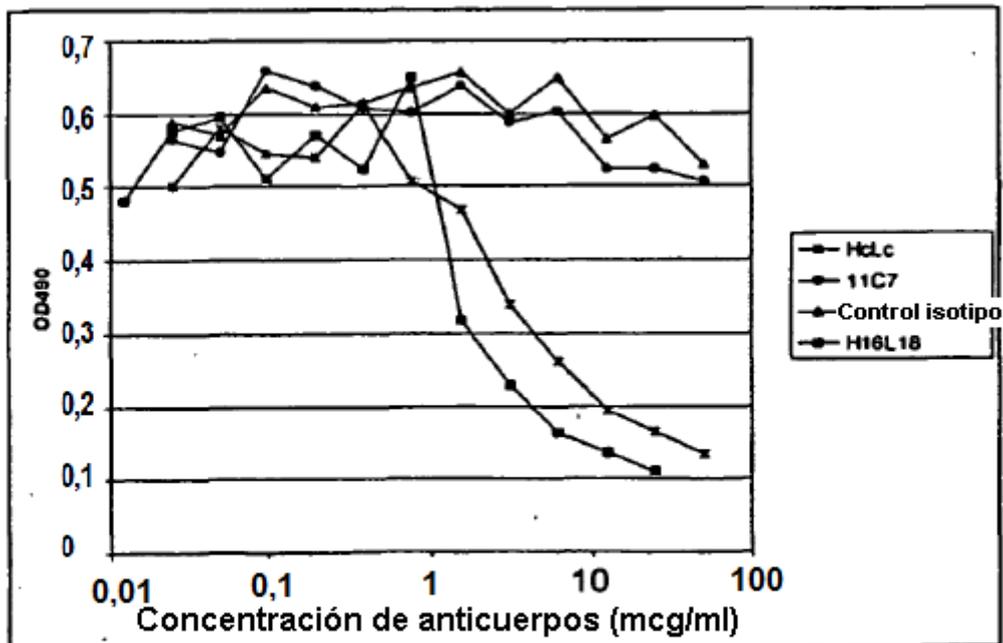


Figura 7 - ELISA de competencia

A.



B.



Concentración de anticuerpos $\mu\text{g/ml}$

Figura 8

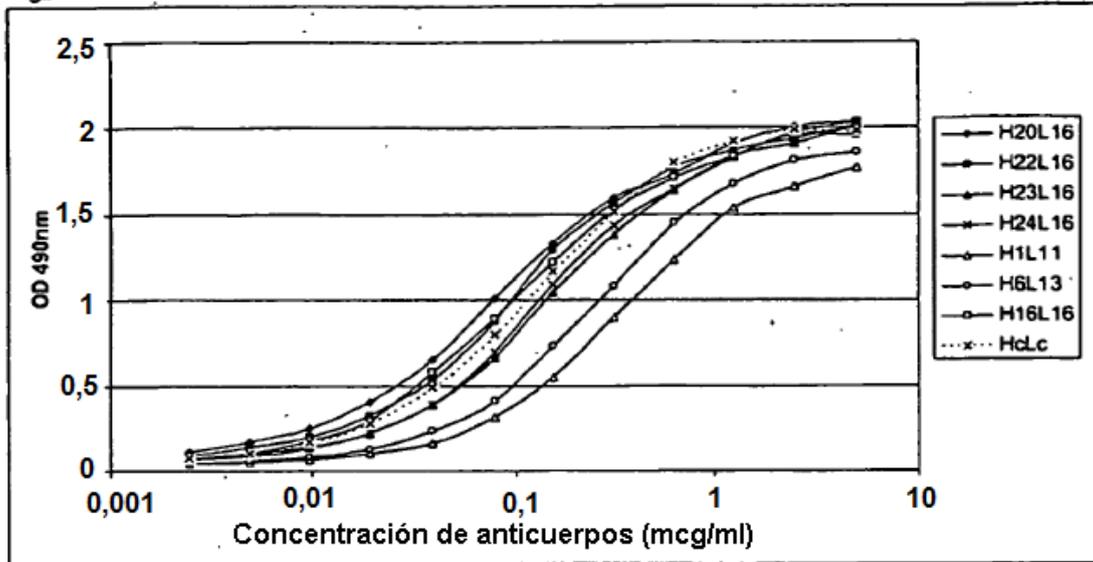


Figura 9

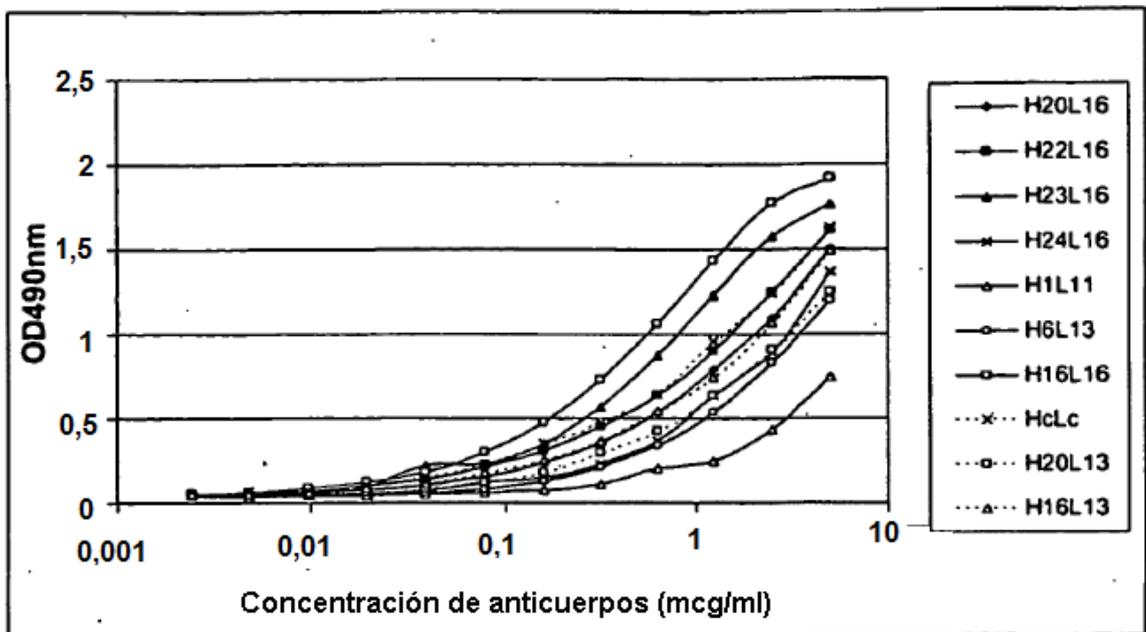


Figura 10

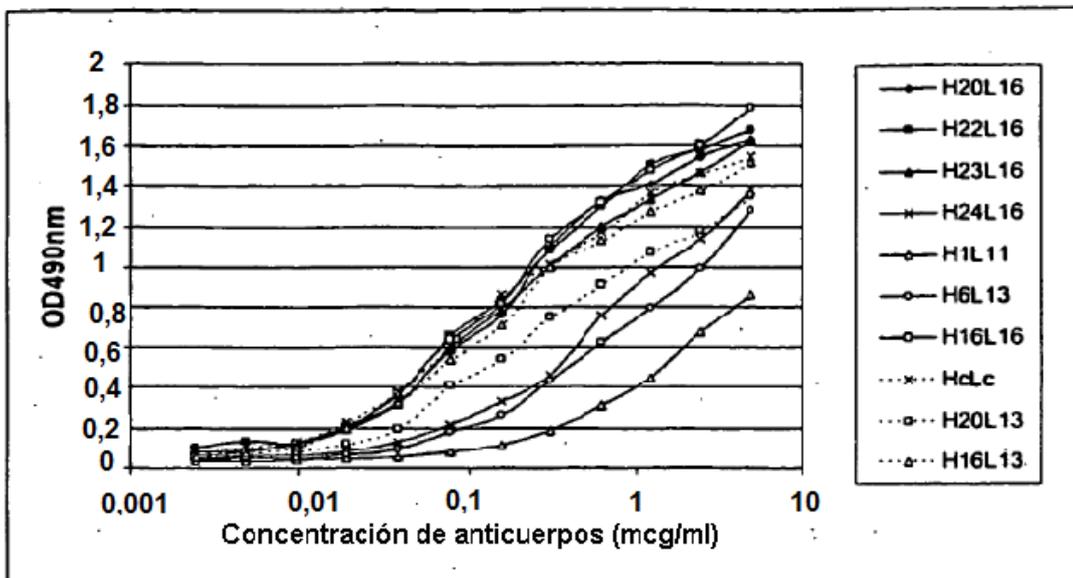


Figura 11

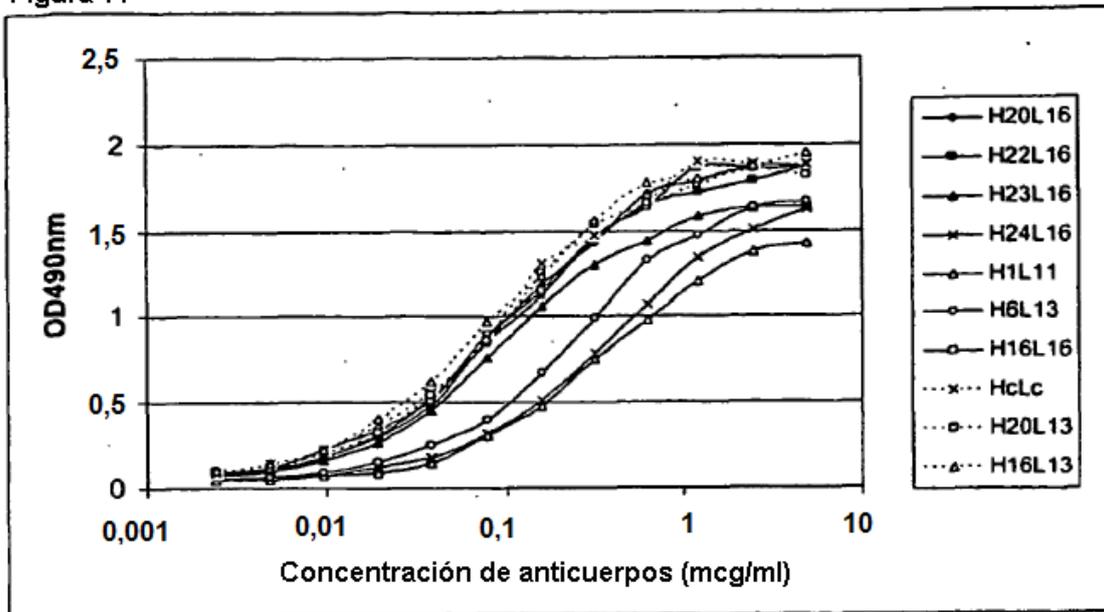
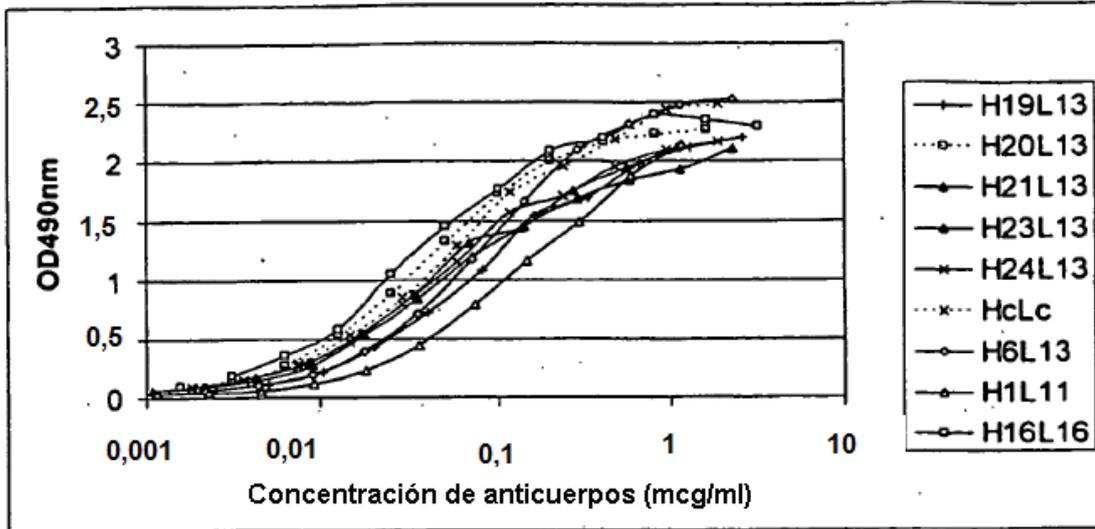


Figura 12
A



B

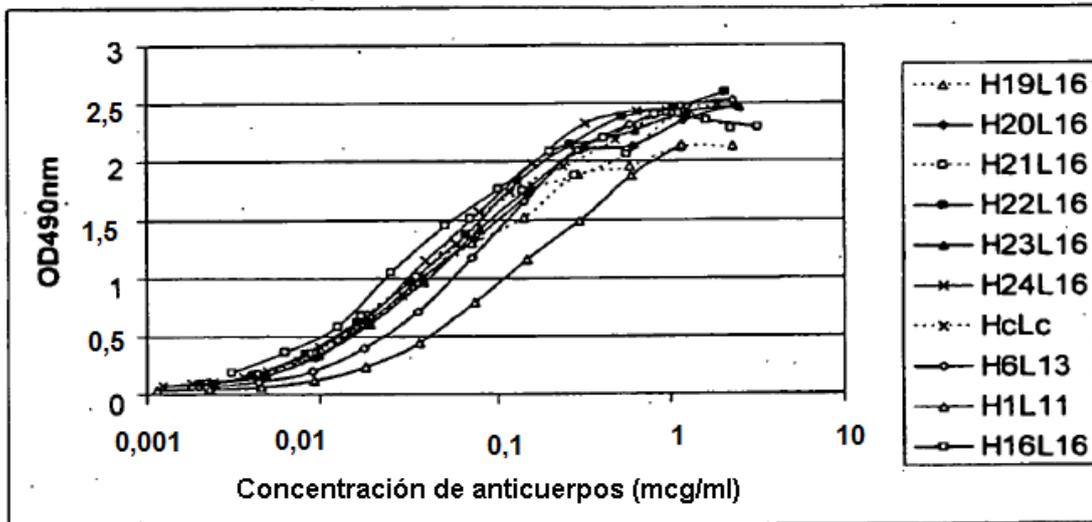


Figura 13

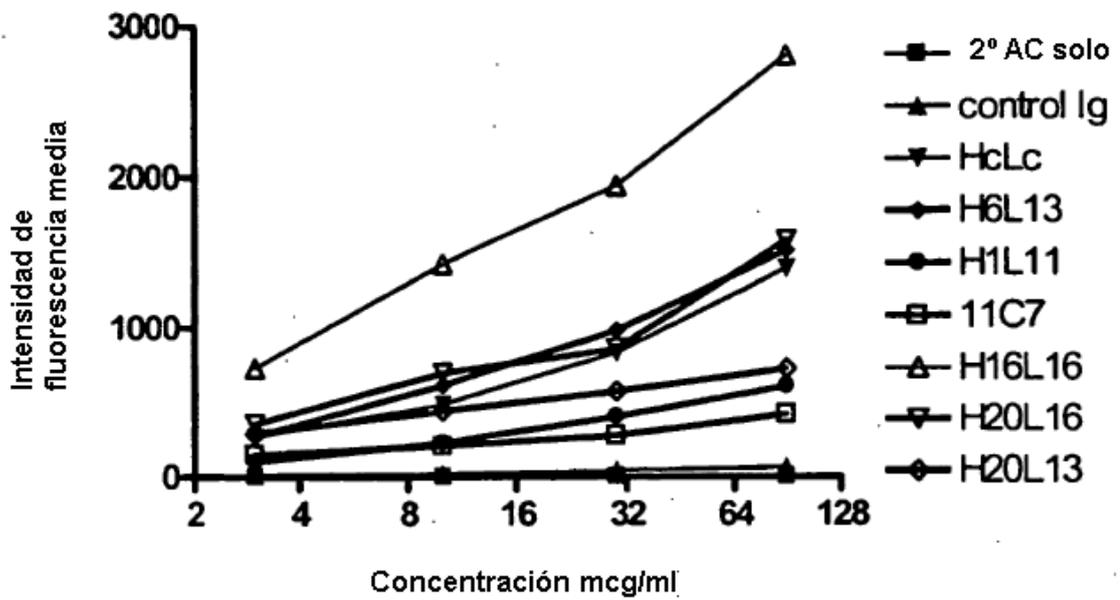
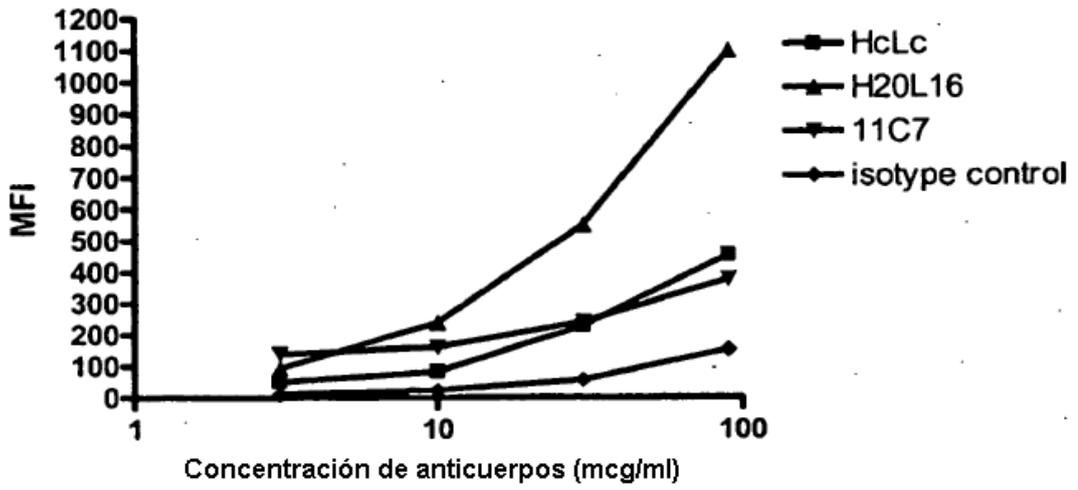


Figura 14

A



B

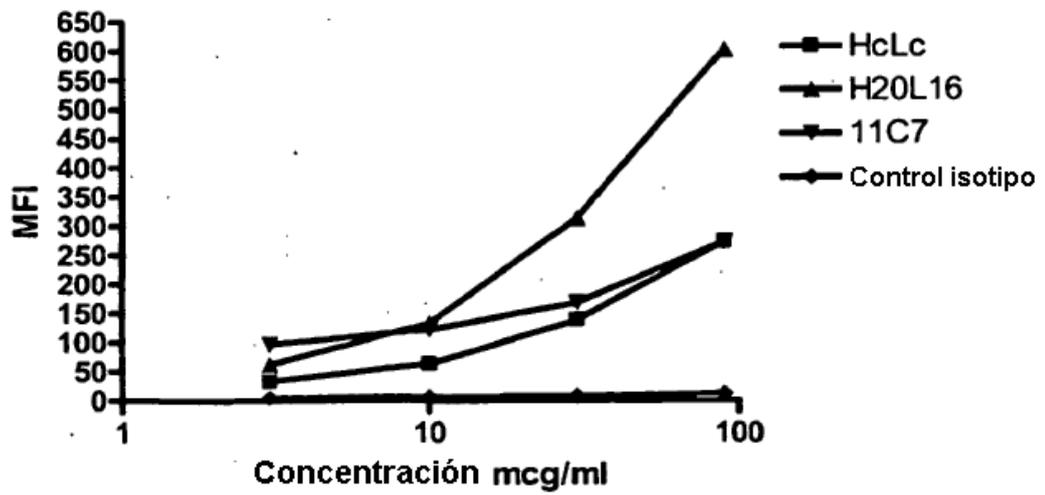


Figura 14 (continuación)

C

