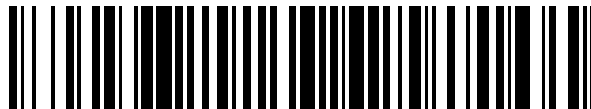


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 431 914**

21 Número de solicitud: 201200465

51 Int. Cl.:

C07K 16/22 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

27.04.2012

43 Fecha de publicación de la solicitud:

28.11.2013

56 Se remite a la solicitud internacional:

PCT/ES2013/000062

71 Solicitantes:

UNIVERSIDAD DE CÁDIZ (50.0%)
OTRI-Vicerrectorado de I+D+i C/ Benito Pérez
Galdós s/n
11002 Cádiz ES y
CURAXYS S.L. (50.0%)

72 Inventor/es:

SANCHEZ DE MELO, Iván ;
VILLEGAS MARTÍNEZ, Enrique ;
BOLIVAR PÉREZ, Jorge;
HERNÁNDEZ RUIZ, Laura ;
CASTRO GONZÁLEZ, Carmen ;
GARCIA COZAR, Francisco José;
PENDÓN MELÉNDEZ, Carlos;
CANTORAL FERNÁNDEZ, Jesús Manuel;
FERNÁNDEZ ACERO, Francisco Javier y
GARRIDO CRESPO, Carlos

54 Título: **Anticuerpo monoclonal humano ANTI-HER2**

57 Resumen:

Anticuerpo monoclonal humano anti-HER2.

La presente invención se refiere a un anticuerpo monoclonal humano que reconoce el dominio extracelular del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) y es producido en células de retina embrionica humana. Asimismo, la presente invención se refiere al uso de dicho anticuerpo para medir el nivel de expresión de HER2 y para la preparación de un medicamento para el tratamiento de trastornos neoplásicos que cursan con la sobreexpresión de HER2.

ES 2 431 914 A1

DESCRIPCIÓN

ANTICUERPO MONOCLONAL HUMANO ANTI-HER2

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención pertenece al campo de la producción de proteínas recombinantes, más concretamente se refiere a un anticuerpo monoclonal humano que reconoce el dominio extracelular del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) y es
10 producido en células de retina embrionica humana. Asimismo, la presente invención se refiere al uso de dicho anticuerpo, en particular para la preparación de un medicamento para el tratamiento de trastornos neoplásicos que cursan con la sobreexpresión de HER2.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La mayoría de los anticuerpos terapéuticos desarrollados como agentes médicos son isotipos humanos IgG1 incluyendo IgG1 quimérica ratón/humano, humanizada y humana. La IgG1 humana es una glicoproteína que tiene en la mayoría de los casos dos
20 glicosilaciones tipo complejo N-biantena unidos a la parte constante (Fc) del anticuerpo, en la cual la mayoría de los oligosacáridos están fucosilados. La IgG1 humana ejerce entre otras funciones, funciones efectoras en la Citotoxicidad Celular Dependiente de Anticuerpo (ADCC, *Antibody Dependent Celular Citotoxicity*) y en la Citotoxicidad Dependiente de Complemento (CDC, *Complement Dependent Citotoxicity*) a través de la interacción de la
25 región Fc con cada uno de los receptores de los leucocitos (FcγRs) o el complemento. La eficacia de los anticuerpos terapéuticos resulta de la especificidad del antígeno diana y de las funciones efectoras del anticuerpo, las cuales son activadas por la formación de los complejos inmunes. Recientemente se ha demostrado que la respuesta ADCC y CDC es uno de los mayores mecanismos anti-neoplásicos responsables de la eficacia clínica de los
30 anticuerpos terapéuticos.

Una de las características comunes de los anticuerpos terapéuticos usados en el tratamiento del cáncer es que su eficacia anti-tumoral requiere altas concentraciones séricas y una terapia continua durante varios meses. Los ciclos de tratamiento requieren,
35 por tanto, varios gramos de anticuerpo terapéutico, resultando en una cantidad de droga significativa y unos costes muy altos. De hecho, se requiere una alta dosis (2-8 mg kg⁻¹) de rituximab IgG1 anti-CD20 (Rituxan ®) o de trastuzumab IgG1 anti-Her2 (Herceptin ®) para

conseguir una concentración sérica efectiva de más de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. A diferencia de estas dosis *in vivo*, la actividad citotóxica máxima *in vitro* vía ADCC de los anticuerpos terapéuticos se consigue con concentraciones de menos de 10 ng kg^{-1} . Esta discrepancia entre la eficacia *in vivo* e *in vitro* se debe principalmente a que la IgG sérica, aunque no
5 afecta la capacidad de unión al antígeno del anticuerpo terapéutico, dificulta la unión del anticuerpo terapéutico con el receptor Fc γ RIIIa de las células NK inhibiendo la respuesta ADCC inducida por dichos anticuerpos. Se ha visto que los anticuerpos terapéuticos afucosilados (no fucosilados) pueden evadir dicho efecto inhibitorio de la IgG plasmática humana sobre la ADCC.

10

La mayoría de anticuerpos terapéuticos actualmente permitidos en el mercado son producidos en líneas celulares de roedores como células de Ovario de Hámster Chino (CHO), mieloma de ratón NS0 y SP2/0 e hibridoma de ratón, estando casi todas las moléculas producidas por estas líneas celulares fucosiladas en los oligosacáridos de la Fc,
15 lo que significa que la respuesta ADCC no es la óptima. Además, en el sistema celular CHO los enzimas encargados de llevar a cabo los procesos de glicosilación difieren de los humanos, como es el caso del enzima que realiza la adición de galactosa (GnTI, GnTII), muy activo y abundante en humanos a diferencia de los roedores. A este respecto, diferentes estudios han descrito que un aumento en el porcentaje de galactosilación resulta
20 en una mejor respuesta CDC en IgG recombinantes, mientras que dicho aumento no tiene un efecto negativo en la respuesta ADCC.

El uso de células no humanas para la producción de proteínas recombinantes puede causar además otros problemas, como un plegamiento incorrecto de las proteínas que sucede
25 durante o después de la traducción, el cual puede ser dependiente de la presencia de las proteínas chaperonas apropiadas. Un plegamiento aberrante puede conducir a una disminución o ausencia de actividad biológica de la proteína recombinante, a una disminución del tiempo de vida media en sangre e inclusive a un aumento de la inmunogenicidad. Además, es de gran importancia la expresión simultánea y en cantidades
30 relativas correctas de aquellos polipéptidos que forman las distintas subunidades de proteínas con estructura cuaternaria, como son los anticuerpos. Los anticuerpos están formados por una unidad básica compuesta de dos cadenas polipeptídicas globulares pesadas y dos cadenas polipeptídicas ligeras unidas entre sí por puentes disulfuro. Ambas cadenas presentan una zona constante y una zona variable. En esta última, se encuentra
35 una zona hipervariable formada por 10 a 15 aminoácidos responsables de la unión específica con el antígeno.

En cuanto a los anticuerpos terapéuticos para el tratamiento del cáncer, el Trastuzumab (comercializado por Roche como Herceptin®) es un anticuerpo monoclonal humanizado IgG1 que reconoce el dominio extracelular del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2). Este anticuerpo está diseñado para bloquear la ruta de proliferación activada por el receptor HER2, producido por un gen específico con potencial cancerígeno. La producción de dicho anticuerpo se lleva a cabo utilizando la línea celular CHO lo que puede conllevar los inconvenientes descritos anteriormente (disminución de la actividad biológica, aumento de la inmunogenicidad, etc.). Por lo tanto, sigue existiendo en el estado de la técnica la necesidad de conseguir un anticuerpo monoclonal humano anti-HER2 con un patrón de glicosilación que favorezca una mejor respuesta inmune.

OBJETO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere en un aspecto a un polipéptido caracterizado porque comprende la secuencia polipeptídica SEQ ID NO 1. Asimismo se refiere a la secuencias nucleotídica que codifica dicha secuencia SEQ ID NO 1 y a un vector que comprende dicha secuencia nucleotídica. También se refiere, en otro aspecto, a una célula de retina embrionaria humana caracterizada porque ha sido transfectada con dicho vector.

Otro aspecto de la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal humano que reconoce HER2 caracterizado porque es producido por dicha célula de retina embrionaria humana. Y se refiere también a una inmunotoxina que comprende un conjugado de dicho anticuerpo y al menos un agente citotóxico. Asimismo se refiere a un kit que comprende dicho anticuerpo o dicha inmunotoxina.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Asimismo, se refiere a una composición farmacéutica que comprende una inmunotoxina que comprende un conjugado de dicho anticuerpo con al menos un agente citotóxico, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención se refiere, en otro aspecto, al uso de dicho anticuerpo para medir el nivel de expresión de HER2. Asimismo, se refiere al uso de dicho anticuerpo para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neoplásico que cursa con la sobreexpresión de HER2. También, se refiere al uso de una inmunotoxina que comprende un conjugado de dicho anticuerpo y al menos un agente citotóxico, para la

preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neoplásico que cursa con la sobreexpresión de HER2.

5 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS**

La Figura 1 muestra un ensayo de unión del anticuerpo CRX01 (anticuerpo monoclonal humano anti-HER2 producidos en células PER.C6® cuyas cadenas pesadas comprenden la SEQ ID NO 1, cuyas cadenas ligeras comprenden la SEQ ID NO 4 y cuyo perfil de glicosilación comprende un porcentaje de afucosilación menor o igual al 4% y un porcentaje de galactosilación mayor o igual al 35%) y Herceptin® realizado mediante *Western Blot* en condiciones reductoras utilizando como anticuerpo primario CRX01 (A) o Herceptin® (B), ambos a una concentración de 5 µg/ml, y como anticuerpo secundario peroxidasa anti-IgG humana a una dilución 1:20.000. Se cargaron 300 ng de un péptido correspondiente al dominio extracelular de la proteína HER2 conjugado a la proteína GST, que tiene un peso molecular total de 35 kDa. Como control negativo se cargo un extracto de células JKT. El *Western Blot* muestra que CRX01 es capaz de unirse en condiciones reductoras a HER2, pudiendo bloquear su actividad.

20

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Un aspecto de la presente invención se refiere a un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO 1. Asimismo, se refiere a una molécula de ADN, ADNc o ARN que comprende la secuencia que codifica el polipéptido de SEQ ID NO 1. En una realización particular, dicha molécula de ADN comprende la secuencia SEQ ID NO 2.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un vector que comprende una molécula de ADN que codifica un polipéptido que comprende la secuencia SEQ ID NO 1, en una realización particular dicho vector comprende la SEQ ID NO 2. En otra realización particular dicho vector comprende además una secuencia nucleotídica que codifica un polipéptido de secuencia SEQ ID NO 4, comprendiendo dicha dicha secuencia nucleotídica, en una realización particular, la secuencia nucleotídica SEQ ID NO 5. En una realización particular, el vector comprende la secuencia nucleotídica SEQ ID NO 3. En otra realización particular, dicho vector tiene la secuencia SEQ ID NO 3.

35

Los anticuerpos están formados por una unidad básica compuesta de dos cadenas polipeptídicas globulares pesadas (referidas también como cadenas pesadas) y dos cadenas polipeptídicas ligeras (referidas también como cadenas ligeras) unidas entre sí por puentes disulfuro. Ambas cadenas (pesadas y ligeras) presentan una zona constante y una zona variable. La secuencia SEQ ID NO 1 codifica cada una de las cadenas polipeptídicas pesadas del anticuerpo monoclonal humano anti-HER2 objeto de la presente invención (ver más adelante) y la secuencia SEQ ID NO 4 codifica cada una de las cadenas polipeptídicas ligeras de dicho anticuerpo. Cabe destacar que en la secuencia polipeptídica de las cadenas pesadas la secuencia los residuos 359 y 361 del dominio constante son ácido aspártico (D) y leucina (L), respectivamente, correspondiendo al alotipo G1m17.1;Km3.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una célula de retina embrionaria humana (en adelante célula de la invención) caracterizada porque es transfectada con un vector que comprende una molécula de ADN que codifica un polipéptido que comprende la secuencia SEQ ID NO 1. En una realización particular, la célula de la invención es transfectada con un vector que codifica un polipéptido que comprende la secuencia SEQ ID NO 1 y un polipéptido que comprende la secuencia SEQ ID NO 4. En otra realización particular, la célula de la invención es transfectada con un vector que comprende la secuencia nucleotídica SEQ ID NO 3. En otra realización particular, la célula de la invención es la célula PER.C6® (Crucell, Percivia), depositada en la *European Collection of Cell Cultures* (ECACC) con el número 96022940 (patentes ES 2333425 T3 y EP 1445322 B1 del titular Crucell Holland B.V.). En una realización particular, la célula de la invención es la célula ECACC 96022940 transfectada con el vector que comprende la SEQ ID NO 3. En una realización particular, dicho vector es transfectado tras ser linealizado, en particular mediante digestión enzimática con el enzima de restricción Scal. Dicha célula ECACC 96022940 transfectada con el vector de secuencia SEQ ID NO 3 linealizado con Scal está depositada según el Tratado de Budapest en la institución *Health Protection Agency Culture Collections* (HPACC) con el número de depósito 12030701.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un anticuerpo monoclonal humano que reconoce a HER2 (en adelante anticuerpo de la invención) es producido por la célula de la invención. Dicho anticuerpo anti-HER2 reconoce HER2 tal y como se muestra en la Figura 1. En los términos de la presente invención se entiende por "anticuerpo monoclonal recombinante humano", también referido como "anticuerpo monoclonal humano", todo aquel anticuerpo monoclonal producido en células humanas a través de la tecnología del ADN recombinante. La producción en células humanas conlleva la importante ventaja de que los anticuerpos producidos presentan un perfil de glicosilación humano y pueden ser por tanto

menos inmunogénicos que los producidos en células no humanas. En una realización particular, el anticuerpo de la invención se caracteriza porque tiene un perfil de glicosilación que comprende un porcentaje de afucosilación menor o igual al 4%. En otra realización particular, el anticuerpo de la invención tiene un perfil de glicosilación que comprende un porcentaje de galactosilación mayor o igual al 35%. En otra realización particular, el anticuerpo de la invención tiene un perfil de glicosilación que comprende un porcentaje de afucosilación menor o igual al 4% y un porcentaje de galactosilación mayor o igual al 35%, y de manera más particular, dicho porcentaje de afucosilación es menor o igual al 3,5% y dicho porcentaje de galactosilación es mayor o igual al 40%, y de manera aún más particular dicho porcentaje de afucosilación es menor o igual al 3% y dicho porcentaje de galactosilación es mayor o igual al 45%. Estos porcentajes de fucosilación y galactosilación suponen una importante ventaja ya que menores niveles de fucosilación han sido vinculados con una mejor respuesta ADCC, mientras que mayores niveles de galactosilación han sido vinculados con una mejor respuesta CDC, lo cual permite que dichos anticuerpos sean administrados en dosis menores.

Otro aspecto de la invención se refiere a un kit que comprende el anticuerpo de la invención según se ha definido en el párrafo anterior.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una inmunotoxina que comprende un conjugado del anticuerpo de la invención según se ha definido anteriormente, y al menos un agente citotóxico. Refiriéndose la invención también, en otro aspecto, al kit que comprende dicha inmunotoxina.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de la invención según se ha definido anteriormente, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Asimismo, se refiere a una composición farmacéutica que comprende una inmunotoxina que comprende un conjugado del anticuerpo de la invención según se ha definido anteriormente y al menos un agente citotóxico, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención en otro aspecto se refiere al uso del anticuerpo de la invención para medir el nivel de expresión de la proteína HER2. Asimismo, se refiere al uso del anticuerpo de la invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neoplásico que cursa con la sobreexpresión de HER2. En una realización particular, dicho trastorno neoplásico que cursa con la sobreexpresión de HER2 es cáncer de mama HER2-positivo.

Un último aspecto de la presente invención se refiere al uso de una inmunotoxina que comprende un conjugado del anticuerpo de la invención según se ha definido anteriormente y al menos un agente citotóxico, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neoplásico que cursa con la sobreexpresión de HER2. En una realización particular, dicho trastorno neoplásico que cursa con la sobreexpresión de HER2 es cáncer de mama HER2-positivo.

10 DEPÓSITO DE MATERIA BIOLÓGICA

La línea celular ECACC con el número 96022940 (PER.C6®) transfectada con el vector v074 (SEQ ID NO 3) linealizado mediante digestión enzimática con Scal ha sido depositada en la institución *Health Protection Agency Culture Collections* (HPACC, Porton Down, Salisbury, Wiltshire, SP4 0JG, Reino Unido) el 7 de marzo de 2012, con el número de depósito 12030701.

Ejemplos

20 A continuación se detallan unos ejemplos concretos de realización de la invención que sirven para ilustrar la invención.

En los presentes ejemplos, como se ha mencionado anteriormente, CRX01 hace referencia a un anticuerpo monoclonal humano anti-HER2 cuyas cadenas pesadas comprenden la SEQ ID NO 1, cuyas cadenas ligeras comprenden la SEQ ID NO 4, y cuyo perfil de glicosilación comprende un porcentaje de afucosilación menor o igual al 4% y un porcentaje de galactosilación mayor o igual al 35%.

Ejemplo 1. Generación de clones productores del anticuerpo CRX01

30 Cultivo de las células PER.C6®

En todo el proceso de cultivo, las células PER.C6® fueron crecidas en medio PerMab (Thermo Fisher Scientific / HyClone, número de catálogo SH30871.01), que está especialmente diseñado para permitir el crecimiento de células en alta densidad. El medio PerMab se completó con la adición del aminoácido glutamina (Ajinomoto) 3mM y del detergente ácido plurónico F-68 (Sigma, número de catálogo P1300) al 1% y en ningún caso se añadió ningún tipo de suero al medio. Dicho medio PerMab complementado con glutamina y ácido plurónico también se denomina "medio completo" de aquí en adelante.

El proceso de cultivo comenzó con la descongelación de un vial de células PER.C6® (CruceCell) y su cultivo en medio completo durante una semana en *T-Flask* 75 cm² (Corning) en condiciones estáticas. A continuación las células fueron adaptadas a agitación para lo cual se cultivaron en *Shake Flask* 250 ml (Corning) a 75 rpm en un agitador orbital.

- 5 El cultivo fue sub-cultivado de forma general cada 3 ó 4 días sembrándose 0,5 x 10⁶ células viables/ml, excepto en los ensayos de producción en Batch en los que se sembraron inicialmente 1 x 10⁶ células viables/ml.

- 10 Transfección de la línea celular PER.C6® con el vector de secuencia SEQ ID NO 3 (vector v074).

Dos días antes de la transfección las células fueron pasadas mediante centrifugación para cambiar completamente el medio y se sembraron 0,7x10⁶ células viables/ml. Se transfectaron 5x10⁶ células viables PER.C6® procedentes de cultivo en *Shake Flask*, con 5 µg del vector de expresión v074, que codifica la cadena pesada y ligera del anticuerpo monoclonal CRX01. El vector v074 fue transfectado en forma circular y lineal (digerido con el enzima de restricción *ScaI* y purificado con QIAquick columns (QIAGEN)) obteniéndose dos *pool* estables de células expresando CRX01 que fueron denominadas *pool* estable PER.C6-CRX01-circular y *pool* estable PER.C6-CRX01-lineal, respectivamente. La transfección se realizó mediante electroporación utilizando el kit V nucleofector y el aparato de transfección AMAXA con el programa X001.

- 15
20 Una vez realizada la transfección, se determinó la densidad celular y se sembraron en *T-Flask* 0,5x10⁶ células/ml en medio PerMab libre de suero suplementado con 3mM glutamina y 1% ácido plurónico F-68 (medio completo) sin geneticina. Además se realizó un control negativo de la transfección.

- 25 A las 48 horas desde la transfección el cultivo fue resembrado a una concentración de 0,5x10⁶ células viables/ml en *T-Flask* cambiando el medio completamente y suplementándolo con 3mM glutamina, 1% ácido plurónico F-68 y 125 µg geneticina (G418, Invitrogen).

- 30 Desde este punto y durante dos semanas se sub-cultivó, sembrándose 0,3x10⁶ células viable/ml y renovando el medio PerMab suplementado con 3mM glutamina, 1% ácido plurónico F-68 y 125 µg G418.

- 35 Los niveles de viabilidad cayeron hasta un 20% en ambas transfecciones. Cuando los parámetros de crecimiento y viabilidad comenzaron a mejorar, aproximadamente a partir del día 15, el cultivo ya se consideró como estable. Desde ese momento, el *pool* estable de células expresando el vector v074 fue sub-cultivado cada 3 ó 4 días mediante dilución en *T-Flask* sembrando 0,5x10⁶ células viables/ml y renovando el medio PerMab suplementado con 3mM glutamina, 1% ácido plurónico F-68 y 125 µg G418.

Generación de un *Master Cell Bank* (MCB) y un *Working Cell Bank* (WCB) del *pool* estable Per.C6-CRX01-lineal y del *pool* estable Per.C6-CRX01-circular

5 Cuando la viabilidad superó el 85% se generó un MCB de ambos *pools* estables en medio PerMab suplementado con 3 mM glutamina y 1% ácido plurónico F-68. Este MCB fue generado en condiciones estáticas.

10 A continuación se descongeló una alícuota del MCB de ambos *pools* y se cultivó en condiciones estáticas durante la primera semana en medio PerMab suplementado con 3mM glutamina y 1% de ácido plurónico, a partir de la cual las células fueron adaptadas a agitación a 75 rpm utilizando el mismo medio de cultivo suplementado con G418. Cuando los parámetros de viabilidad estuvieron por encima del 90% y los tiempos de duplicación estuvieron entre 30 y 40 horas se generó el WCB de ambos *pools* estables.

Selección de clones productores del anticuerpo CRX01

15 Para seleccionar clones súper-productores del anticuerpo CRX01 se realizó un proceso de dilución límite, que consistió en sembrar entre 0,5 y 1 células por pocillo en placas de 96 pocillos, a partir de aquí se llevaron a cabo dos *screenings* de cada uno de los *pools* estables, circular y lineal. Un primer *screening* en placas de 96 pocillos de donde se eligieron los 24 clones más productivos. Dichos clones fueron sometidos a un segundo *screening* en *T-Flask* de 25 cm², del cual se eligieron los 4 clones que más CRX01 produjeron, llamados PER.C6-CRX01-Lin45, PER.C6-CRX01-Lin90, PER.C6-CRX01-Circ49, PER.C6-CRX01-Circ103.

Ejemplo 2.- Afucosilación y galactosilación del anticuerpo CRX01.

25 Se ha llevado a cabo un estudio comparativo del porcentaje de afucosilación y galactosilación de Herceptin y de CRX01 producidos en células PER.C6® siguiendo las instrucciones de la compañía distribuidora de las células PER.C6® (Percivia) y descritas en el ejemplo anterior. Para ello, se ha llevado a cabo un ensayo de liberación enzimática de los glicanos, seguido de marcaje fluorescente y análisis mediante UPLC (cromatografía líquida de alta eficacia). Los N-glicanos fueron liberados de las muestras de IgG mediante incubación *overnight* con N-glicosidasa F (Prozyme, Hayward, CA). Los glicanos liberados fueron recuperados en el sobrenadante seco tras la precipitación de la proteína con etanol al 75%. Los oligosacáridos fueron marcados con el fluoróforo 2-aminobenzamida (2AB, Prozyme) y analizados utilizando "Acquity UPLC® BEH glycan column" (Waters) siguiendo las instrucciones del fabricante. Con los datos obtenidos, se calcularon los porcentajes de afucosilación y galactosilación según las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ afucosilación} = \frac{G_0 + G_1 + G_2}{G_0 + G_0F + G_1 + G_1F + G_2 + G_2F} \times 100$$

$$\% \text{ galactosilación} = \frac{G_1F + (2 \times G_2F)}{2 \times (G_0F + G_1F + G_2F)} \times 100$$

5 G0, G1 y G2 se refieren a estructuras compleja, neutral, biantena con 0, 1 y 2 residuos
 10 terminales de galactosa, mientras que G0F, G1F y G2F son las correspondientes
 estructuras fucosiladas. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1, donde se
 observa que el porcentaje de afucosilación en CRX01 (obtenido de distintos clones PER.C6-
 CRX01 tanto lineales como circulares) es menor que el porcentaje de afucosilación en
 Herceptin. En concreto, el porcentaje de afucosilación en CRX01 es menor al 4%, mientras
 que el de Herceptin es del 5%. En cuanto al porcentaje de galactosilación, el mismo es
 superior en CRX01 que en Herceptin, siendo dicho porcentaje superior al 40% en CRX01,
 mientras que en Herceptin no supera el 25%.

15 Tabla 1.- Porcentaje afucosilación y galactosilación de CRX01 y Herceptin.

	% Afucosilación	% Galactosilación
Herceptin	5	24,5
CRX01_Lin45	3,46	48,1
CRX01_Lin90	1,5	52,6
CRX01_Circ49	3,2	56,7
CRX01_Circ103	3,15	55,3

REIVINDICACIONES

- 5
1. Polipéptido caracterizado por que comprende la secuencia SEQ ID NO 1.
- 10
2. Molécula de ADN, ADNc o ARN caracterizada por que comprende la secuencia que codifica un polipéptido según la reivindicación 1.
 3. Molécula de ADN según la reivindicación anterior caracterizada por que comprende la secuencia SEQ ID NO 2.
- 15
4. Vector que comprende una molécula de ADN según una cualquiera de las reivindicaciones 2 ó 3.
 5. Vector según la reivindicación 4 que además comprende una molécula de ADN que comprende una secuencia que codifica un polipéptido de secuencia SEQ ID NO 4.
- 20
6. Vector según la reivindicación 5 que comprende la secuencia nucleotídica SEQ ID NO 3.
- 25
7. Célula de retina embrionica humana caracterizada por que es transfectada con un vector según la reivindicación 4.
 8. Célula según la reivindicación 7 donde la célula de retina embrionica humana es la célula ECAAC No. 96022940.
- 30
9. Célula de retina embrionica humana caracterizada por que ha sido transfectada con un vector según la reivindicación 5 ó 6.
 10. Célula según la reivindicación 9 donde la célula de retina embrionica humana es la célula ECAAC No. 96022940.
- 35
11. Célula según la reivindicación 10 depositada en la HPACC con el número de depósito 12030701.

12. Anticuerpo monoclonal humano que reconoce el dominio extracelular del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) caracterizado porque es producido por una célula según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11.
- 5 13. Anticuerpo según la reivindicación 12 con un perfil de glicosilación que comprende un porcentaje de afucosilación menor o igual al 4%.
14. Anticuerpo según la reivindicación 12 con un perfil de glicosilación que comprende un porcentaje de galactosilación mayor o igual al 35%.
- 10 15. Anticuerpo según la reivindicación 12 con un perfil de glicosilación que comprende un porcentaje de afucosilación menor o igual al 4% y un porcentaje de galactosilación mayor o igual al 35%.
- 15 16. Inmunotoxina que comprende un conjugado de un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 12-15, y al menos un agente citotóxico.
17. Composición farmacéutica que comprende un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 12-15 o una inmunotoxina según la reivindicación 16, y un
- 20 vehículo farmacéuticamente aceptable.
18. Uso de un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 12-15 para la detección del nivel de expresión de la proteína HER2.
- 25 19. Uso de un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 12-15 o una inmunotoxina según la reivindicación 16 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neoplásico que cursa con la sobreexpresión de HER2.
- 30 20. Uso de un anticuerpo según la reivindicación 19 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer de mama HER2-positivo.
21. Uso de una inmunotoxina según la reivindicación 19 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer de mama HER2-positivo.
- 35 22. Kit que comprende un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 12-15 o una inmunotoxina según la reivindicación 16.

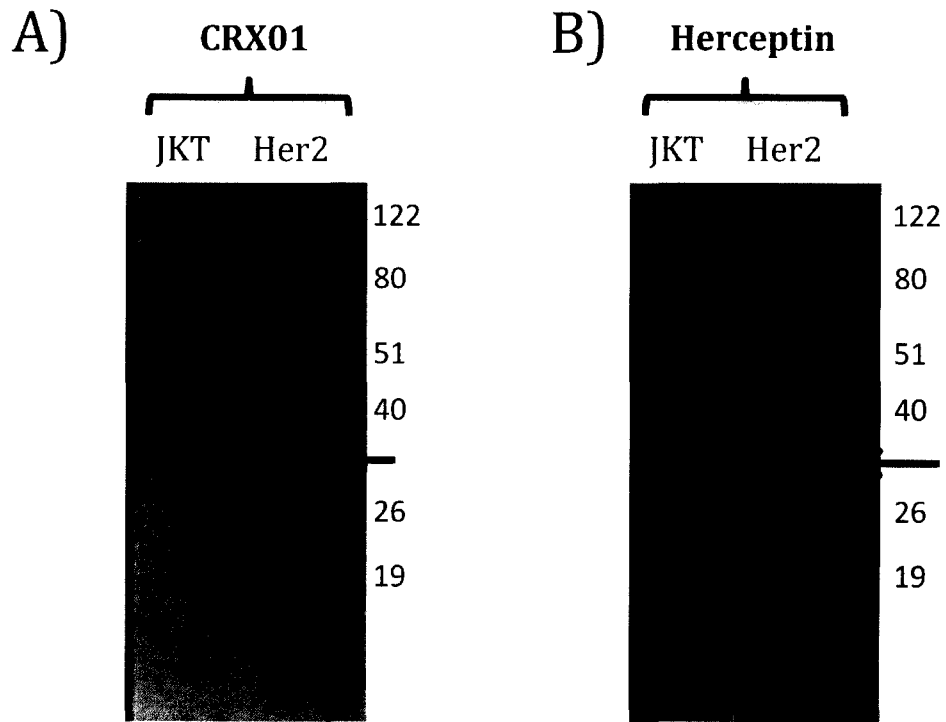


FIG. 1

ES 2 431 914 A1
LISTA DE SECUENCIAS

CRX01_seqs_ST25 (2)

- <110> curaxys
- <120> Anticuerpo monoclonal humano anti-HER2
- <130> 198/11
- <160> 5
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 450
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence
- <220>
- <223> Secuencia aminoac'dica de la cadena pesada de CRX01
- <400> 1

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

ES 2 431 914 A1

CRX01_seqs_ST25 (2)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Thr Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 340 345 350

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

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

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

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 405 410 415

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

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

Gly Lys
 450

ES 2 431 914 A1

CRX01_seqs_ST25 (2)

<210> 2
 <211> 1350
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Secuencia ADN que codifica la cadena pesada del anticuerpo CRX01

<400> 2
 gaggtgcagc tggtcgagtc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggctc cctgcggctg 60
 tcctgcgccg cctccggctt caacatcaag gacacctaca tccactgggt gcggcaggcc 120
 cctggcaagg gcctggagtg ggtggccccg atctacccta ccaacggcta caccagatac 180
 gccgactccg tgaagggccg gttcaccatc tccgccgaca cctccaagaa caccgcctac 240
 ctgcagatga actccctgcg ggcccaggac accgccgtgt actactgctc cagatggggc 300
 ggagatggct tctacgccat ggactactgg ggccagggca ccctggtgac cgtgtcctcc 360
 gctagacca agggcccttc cgtgttcctt ctggcccctt cctccaagtc cacctccggc 420
 ggcaccgccg ctctgggctg cctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgagc 480
 tggaaactctg gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtccctc 540
 ggctgtact ccctgtcctc cgtggtgaca gtgccttctt cctccctggg caccagacc 600
 tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct 660
 aagtcctgcg acaagacca cacctgccct ccctgccctg cccctgagct gctgggcgga 720
 ccctccgtgt tctgttccc tccaaagcct aaggacacc tgatgatctc ccggaccctt 780
 gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgtcc cacgaggacc cagaggtgaa gttcaattgg 840
 tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ctccgggagga acagtacaac 900
 tccacctacc ggggtggtgtc cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag 960
 gaatacaagt gcaaggtgtc caacaaggcc ctgcctgccc ccatcgaaa gactcctgtg 1020
 ctggactccg acggctcctt cttcctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtggggacgag 1080
 ctgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtgaagg gcttctacct ttccgatatc 1140
 gccgtggagt gggagtcaa cggccagcct gagaacaact acaagaccac ccccatctcc 1200
 aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacacct tgccctccct cccccggtgg 1260
 cagcagggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg ccctgcacaa ccaactaccc 1320
 cagaagtccc tgtccctgag ccctggcaag 1350

<210> 3
 <211> 8841
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> secuencia ADN del vector v074

<400> 3
 tactcttctt ttttcaatat tattgaagca tttatcaggg ttattgtctc atgagcggat 60

ES 2 431 914 A1

CRX01_seqs_ST25 (2)

acatatttga	atgtatttag	aaaaataaac	aaataggggt	tccgcgcaca	tttccccgaa	120
aagtgccacc	tgacgtcgac	ggatcgggag	atctcccgat	cccctatggt	gcactctcag	180
tacaatctgc	tctgatgccg	catagttaag	ccagtatctg	ctccctgctt	gtgtgttggg	240
ggtcgtgag	tagtgcgcga	gcaaaattta	agctacaaca	aggcaaggct	tgaccgacaa	300
ttgcatgaag	aatctgctta	gggttaggcg	ttttgcgctg	cttcgctagg	tggtcaatat	360
tggccattag	ccatattatt	cattggttat	atagcataaa	tcaatattgg	ctattggcca	420
ttgcatacgt	tgtatccata	tcataatatg	tacatttata	ttggctcatg	tccaacatta	480
ccgccatggt	gacattgatt	attgactagt	tattaatagt	aatcaattac	ggggtcatta	540
gttcatagcc	catatatgga	gttccgcggt	acataactta	cggtaaatgg	cccgcctggc	600
tgaccgcca	acgacccccg	cccattgacg	tcaataatga	cgtatgttcc	catagtaacg	660
ccaatagggg	ctttccattg	acgtcaatgg	gtggagtatt	tacggtaaac	tgcccacttg	720
gcagtacatc	aagtgtatca	tatgccaaagt	acgcccccta	ttgacgtcaa	tgacggtaaa	780
tggccccgct	ggcattatgc	ccagtacatg	accttatggg	actttcctac	ttggcagtac	840
atctacgtat	tagtcatcgc	tattaccatg	gtgatgcggt	tttggcagta	catcaatggg	900
cgtggatagc	ggtttgactc	acggggatth	ccaagtctcc	acccattga	cgatcaatggg	960
agtttgtttt	ggcaccaaaa	tcaacgggac	tttccaaaat	gtcgtaaaca	ctccgccccca	1020
ttgacgcaaa	tgggcggtag	gcgtgtacgg	tgggaggctt	atataagcag	agctcgttta	1080
gtgaaccgtc	agatcgcttg	gagacgccat	ccacgctggt	ttgacctcca	tagaagacac	1140
cgggaccgat	ccagcctccg	cggccgggaa	cggtgcattg	gaagcttggg	accgagctcg	1200
gatccgccac	catggagtgg	tccggcgtgt	tcatgttcct	gctgtccgtg	accgctggcg	1260
tgcactccga	ggtgcagctg	gtcagagtctg	gcggcggact	ggtgcagcct	ggcggctccc	1320
tgcggctgtc	ctgcgccgcc	tccggcttca	acatcaagga	cacctacatc	cactgggtgc	1380
ggcaggcccc	tggcaagggc	ctggagtggg	tggccccgat	ctaccctacc	aacggctaca	1440
ccagatacgc	cgactccgtg	aagggccggt	tcaccatctc	cgccgacacc	tccaagaaca	1500
ccgcctacct	gcagatgaac	tccctgcggg	ccgaggacac	cgccgtgtac	tactgctcca	1560
gatggggcgg	agatggcttc	tacgccatgg	actactgggg	ccagggcacc	ctggtgaccg	1620
tgtcctccgc	tagcaccaag	ggcccttccg	tgttccctct	ggccccttcc	tccaagtcca	1680
cctccggcgg	caccgccgct	ctgggctgcc	tggatgaagga	ctacttccct	gagcctgtga	1740
ccgtgagctg	gaactctggc	gccctgacca	gcggcgtgca	caccttccct	gccgtgctgc	1800
agtcctccgg	cctgtactcc	ctgtcctccg	tggatgacagt	gccttccctc	tccctgggca	1860
cccagacct	catctgcaac	gtgaaccaca	agccttccaa	caccaagggtg	gacaagaagg	1920
tggagcctaa	gtcctgcgac	aagaccaca	cctgccctcc	ctgccctgcc	cctgagctgc	1980
tgggcccggacc	ctccgtgttc	ctgttccctc	ctaagcctaa	ggacaccctg	atgatctccc	2040
ggaccctga	ggtgacctgc	gtggtggtgg	acgtgtccca	cgaggacca	gaggtgaagt	2100

ES 2 431 914 A1

CRX01_seqs_ST25 (2)

tcaattggta	cgtggacggc	gtggaggtgc	acaacgccaa	gaccaagcct	cgggaggaac	2160
agtacaactc	cacctaccgg	gtggtgtccg	tgctgaccgt	gctgcaccag	gactggctga	2220
acggcaagga	atacaagtgc	aagggtgtcca	acaaggccct	gcctgcccc	atcgaaaaga	2280
ccatctccaa	ggccaagggc	cagcctcgcg	agcctcaggt	gtacaccctg	cctccctccc	2340
gggacgagct	gaccaagaac	caggtgtccc	tgacctgtct	ggtgaagggc	ttctaccctt	2400
ccgatatcgc	cgtggagtgg	gagtccaacg	gccagcctga	gaacaactac	aagaccacc	2460
ctcctgtgct	ggactccgac	ggctccttct	tctgtactc	caagctgacc	gtggacaagt	2520
cccgggtggca	gcagggcaac	gtgttctcct	gctccgtgat	gcacgaggcc	ctgcacaacc	2580
actacacca	gaagtccttg	tccctgagcc	ctggcaagtg	ataatctagc	gaattcaccg	2640
gtaccaagct	taagtttaaa	ccgctgatca	gcctcgactg	tgcttcttag	ttgccagcca	2700
tctgttgttt	gcccctcccc	cgtgccttcc	ttgaccctgg	aagggtgccac	tcccactgtc	2760
ctttccta	aaaatgagga	aattgcatcg	cattgtctga	gtaggtgtca	ttctattctg	2820
gggggtgggg	tggggcagga	cagcaagggg	gaggattggg	aagacaatag	caggcatgct	2880
ggggatgcgg	tgggctctat	ggcttctgag	gcggaaagaa	ccagctgggg	ctctaggggg	2940
tatccccacg	cgccctgtag	cggcgcatta	agcgcggcgg	gtgtggtggt	tacgcgcagc	3000
gtgaccgcta	cacttgccag	cgcctagcgc	ccgctccttt	cgctttcttc	ccttcctttc	3060
tcgccacgtt	cgccggcttt	ccccgtcaag	ctctaaatcg	ggggctccct	ttagggttcc	3120
gatttagtgc	tttacggcac	ctcgacccca	aaaaacttga	ttagggtgat	ggttcacgta	3180
gtgggccatc	gccctgatag	acggtttttc	gccctttgac	gttggagtcc	acgttcttta	3240
atagtggact	cttgttccaa	actggaacaa	cactcaacc	tatctcggtc	tattcttttg	3300
atttataagg	gattttgccg	atttcggcct	attggttaaa	aaatgagctg	atttaacaaa	3360
aatttaacgc	gaattaattc	tgtggaatgt	gtgtcagtta	gggtgtggaa	agtccccagg	3420
ctccccagca	ggcagaagta	tgcaaagcat	gcatctcaat	tagtcagcaa	ccagggtggt	3480
aaagtcccca	ggctccccag	caggcagaag	tatgcaaagc	atgcatctca	attagtcagc	3540
aaccatagtc	ccgcccctaa	ctccgcccat	cccgccctta	actccgcccc	gttccgcccc	3600
ttctccgccc	catggctgac	taattttttt	tatttatgca	gaggccgagg	ccgctctg	3660
ctctgagcta	ttccagaagt	agtgaggagg	cttttttggg	ggcctaggct	tttgcaaaaa	3720
gctcccggga	gcttgatat	ccattttcgg	atctgatcaa	gagacaggat	gaggatcggt	3780
tcgcatgatt	gaacaagatg	gattgcacgc	aggttctccg	gccgcttggg	tggagaggct	3840
attcggctat	gactgggcac	aacagacaat	cggctgctct	gatgccgccc	tgttccggct	3900
gtcagcgcag	gggcgcccgg	ttctttttgt	caagaccgac	ctgtccgggtg	ccctgaatga	3960
actgcaggac	gaggcagcgc	ggctatcgtg	gctggccacg	acgggcgttc	cttgcgcagc	4020
tgtgctcgac	gttgtcactg	aagcgggaag	ggactggctg	ctattgggcg	aagtgccggg	4080
gcaggatctc	ctgtcatctc	accttgctcc	tgccgagaaa	gtatccatca	tggctgatgc	4140

ES 2 431 914 A1

CRX01_seqs_ST25 (2)

aatgcggcgg	ctgcatacgc	ttgatccggc	tacctgcca	ttcgaccacc	aagcgaaaca	4200
tcgcatcgag	cgagcacgta	ctcggatgga	agccggtctt	gtcgatcagg	atgatctgga	4260
cgaagagcat	caggggctcg	cgccagccga	actgttcgcc	aggctcaagg	cgcgcatgcc	4320
cgacggcgag	gatctcgtcg	tgacccatgg	cgatgcctgc	ttgccgaata	tcatggtgga	4380
aaatggccgc	ttttctggat	tcatcgactg	tggccggctg	ggtgtggcgg	accgctatca	4440
ggacatagcg	ttggctaccc	gtgatattgc	tgaagagctt	ggcggcgaat	gggctgaccg	4500
cttcctcgtg	ctttacggta	tcgccgctcc	cgattcgcag	cgcatcgcct	tctatcgcct	4560
tcttgacgag	ttcttctgag	cgggactctg	gggttcggtg	ctacgagatt	tcgattccac	4620
cgccgccttc	tatgaaaggt	tgggcttcgg	aatcgttttc	cgggacgccg	gctggatgat	4680
cctccagcgc	ggggatctca	tgctggagtt	cttcgcccac	cccaacttgt	ttattgcagc	4740
ttataatggt	tacaaataaa	gcaatagcat	cacaaatttc	acaaataaag	catttttttc	4800
actgcattct	agttgtgggt	tgtccaaact	catcaatgta	tcttatcatg	tctgtatacc	4860
gtcgacctct	agctagagct	tggcgtaatc	atggatcatag	ctgtttcctg	tgtgaaattg	4920
ttatccgctc	acaattccac	acaacatacg	agccggaagc	ataaagtgta	aagcctgggg	4980
tgcctaataga	gtgagctaac	tcacattaat	tgcgttcgac	tactgcccg	ctttccagtc	5040
gggaaacctg	tcgtgccaga	attgcatgaa	gaatctgctt	agggttaggc	gttttgcgct	5100
gcttcgctag	gtggtcaata	ttggccatta	gccatattat	tcattgggta	tatagcataa	5160
atcaatattg	gctattggcc	attgcatacg	ttgtatccat	atcataatat	gtacatttat	5220
attggctcat	gtccaacatt	accgccatgt	tgacattgat	tattgactag	ttattaatag	5280
taatcaatta	cggggtcatt	agttcatagc	ccatataatg	agttccgctg	tacataactt	5340
acggtaaatg	gcccgcctgg	ctgaccgccc	aacgaccccc	gcccattgac	gtcaataatg	5400
acgtatgttc	ccatagtaac	gccaataggg	actttccatt	gacgtcaatg	ggtggagtat	5460
ttacggtaaa	ctgcccactt	ggcagtacat	caagtgtatc	atatgccaag	tacgccccct	5520
attgacgtca	atgacggtaa	atggcccggc	tggcattatg	cccagtacat	gaccttatgg	5580
gactttccta	cttggcagta	catctacgta	ttagtcatcg	ctattaccat	ggtgatgcgg	5640
ttttggcagt	acatcaatgg	gcggtggatag	cggtttgact	cacggggatt	tccaagtctc	5700
caccccattg	acgtcaatgg	gagtttgttt	tggcaccaaa	atcaacggga	ctttccaaaa	5760
tgtcgtaaaca	actccgcccc	attgacgcaa	atgggcggta	ggcgtgtacg	gtgggaggtc	5820
tatataagca	gagctcgttt	agtgaaccgt	cagatcgctt	ggagacgcca	tccacgctgt	5880
tttgacctcc	atagaagaca	ccgggaccga	tccagcctcc	gcggccggga	acggtgcatt	5940
ggaagcttgg	taccggtgaa	ttcggcgcgc	caccatggag	tggcggcg	tgttcatggt	6000
cctgctgtcc	gtgaccgctg	gcggtgactc	cgacatccag	atgaccaggt	ccccctcctc	6060
cctgtccgcc	tccgtgggcy	accgggtgac	catcacctgc	cgggcctccc	aggacgtgaa	6120
caccgccgtg	gcctggtatc	agcagaagcc	tggcaaggcc	cctaagctgc	tgatctactc	6180

ES 2 431 914 A1

CRX01_seqs_ST25 (2)

cgctccttc	ctgtactccg	gcgtgccttc	ccggttctcc	ggctcccgg	ccggcaccga	6240
cttcaccctg	accatctcct	ccctgcagcc	tgaggacttc	gccacctact	actgccagca	6300
gcactacacc	accctccta	ccttcggcca	gggcaccaag	gtggagatca	agcggaccgt	6360
ggccgctcct	tccgtgttca	tcttccctcc	ctccgacgag	cagctgaaga	gcggcaccgc	6420
cagcgtggtg	tgctgctga	acaacttcta	ccctcgggag	gccaaggtgc	agtggaaggt	6480
ggacaacgcc	ctgcagtccg	gcaactccca	ggaaaagcgtc	accgagcagg	actccaagga	6540
cagcacctac	tccctgtcct	ccaccctgac	cctgtccaag	gccgactacg	agaagcacia	6600
ggtgtacgcc	tgcgaggatg	cccaccagg	cctgtccagc	cctgtgacca	agtccttcaa	6660
ccggggcgag	tgctgatgag	ttaacggatc	gatccgagct	cggtaccaag	cttaagttaa	6720
aaccgctgat	cagcctcgac	tgtgccttct	agttgccagc	catctgttgt	ttgccccctc	6780
cccgtgcctt	ccttgaccct	ggaaggtgcc	actcccactg	tcctttccta	ataaaatgag	6840
gaaattgcat	cgcattgtct	gagtaggtgt	cattctattc	tgggggggtg	ggtggggcag	6900
gacagcaagg	gggaggattg	ggaagacaat	agcaggcatg	ctggggatgc	ggtgggctct	6960
atggcttctg	aggcggaaa	aaccagctgc	attaatgaat	cgccaacgc	gcggggagag	7020
gcggtttgcg	tattgggcgc	tcttccgctt	cctcgctcac	tgactcgctg	cgctcggtcg	7080
ttcggctgcg	gcgagcggta	tcagctcact	caaaggcgg	aatacggta	tccacagaat	7140
caggggataa	cgcaggaaa	aacatgtgag	caaaaggcca	gcaaaaggcc	aggaaccgta	7200
aaaaggccgc	gttgctggcg	ttttccata	ggctccgccc	ccctgacgag	catcacaaa	7260
atcgacgctc	aagtcagagg	tggcgaaacc	cgacaggact	ataaagatac	caggcgtttc	7320
cccctggaag	ctccctcg	cgctctcctg	ttccgaccct	gccgcttacc	ggatacctgt	7380
ccgcctttct	cccttcggga	agcgtggcgc	tttctcatag	ctcacgctgt	aggtatctca	7440
gttcggtgta	ggtcgttcgc	tccaagctgg	gctgtgtgca	cgaaccccc	gttcagccc	7500
accgctg	cttatccggt	aactatcgtc	ttgagtccaa	cccggtaaga	cacgacttat	7560
cgccactggc	agcagccact	ggtaacagga	ttagcagagc	gaggtatgta	ggcggtgcta	7620
cagagttctt	gaagtgggtg	cctaactacg	gctacactag	aagaacagta	tttggtatct	7680
gcgctctgct	gaagccagtt	accttcggaa	aaagagttgg	tagctcttga	tccggcaaac	7740
aaaccaccgc	tggtagcgg	ggtttttttg	tttgcaagca	gcagattacg	cgcagaaaa	7800
aaggatctca	agaagatcct	ttgatctttt	ctacggggtc	tgacgctcag	tggaacgaaa	7860
actcacgta	agggattttg	gtcatgagat	tatcaaaaag	gatcttcacc	tagatccttt	7920
taaattaa	atgaagtttt	aatcaatct	aaagtatata	tgagtaaact	tggtctgaca	7980
gttaccaatg	cttaatcagt	gaggcaccta	tctcagcgat	ctgtctat	cgttcatcca	8040
tagttgctg	actccccgtc	gtgtagataa	ctacgatac	ggagggctta	ccatctggcc	8100
ccagtgctgc	aatgataccg	cgagaccac	gctcaccggc	tccagattta	tcagcaataa	8160
accagccagc	cggaagggcc	gagcgcagaa	gtggctctgc	aactttatcc	gcctccatcc	8220

ES 2 431 914 A1

CRX01_seqs_ST25 (2)

```

agtctattaa ttgttgccgg gaagctagag taagtagttc gccagttaat agtttgcgca      8280
acgttgttgc cattgctaca ggcacgtgg tgtcacgctc gtcgtttggg atggcttcat      8340
tcagctccgg ttcccaacga tcaaggcgag ttacatgatc ccccatgttg tgcaaaaaag      8400
cggttagctc cttcggctct cccgatcgttg tcagaagtaa gttggccgca gtgttatcac      8460
tcatggttat ggcagcactg cataattctc ttactgtcat gccatccgta agatgctttt      8520
ctgtgactgg tgagtactca accaagtcac tctgagaata gtgtatgcgg cgaccgagtt      8580
gctcttgccc ggcgtcaata cgggataata cgcgccaca tagcagaact ttaaaagtgc      8640
tcatcattgg aaaacgttct tcggggcgaa aactctcaag gatcttaccg ctgttgagat      8700
ccagttcgat gtaacccact cgtgcacca actgatcttc agcatctttt actttcacca      8760
gcgtttctgg gtgagcaaaa acaggaaggc aaaatgccgc aaaaaagga ataagggcga      8820
cacggaaatg ttgaatactc a                                             8841

```

```

<210> 4
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

```

```

<220>
<223> Secuencia aminoac'dica de la cadena ligera del anticuerpo CRX01.

```

```

<400> 4

```

```

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

```

ES 2 431 914 A1

CRX01_seqs_ST25 (2)

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 5
<211> 642
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Secuencia ADN que codifica la cadena ligera del anticuerpo CRX01.

<400> 5
gacatccaga tgaccagtc cccctcctcc ctgtccgcct ccgtgggcga ccgggtgacc 60
atcacctgcc gggcctccca ggacgtgaac accgccgtgg cctggtatca gcagaagcct 120
ggcaaggccc ctaagctgct gatctactcc gcctccttcc tgtactccgg cgtgccttcc 180
cggttctccg gctcccggtc cggcaccgac ttcaccctga ccatctctc cctgcagcct 240
gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag cactacacca cccctcctac cttcggccag 300
ggcaccaagg tggagatcaa gcggaccgtg gccgctcctt ccgtgttcat cttccctccc 360
tccgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420
cctcgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg caactcccag 480
gaaagcgtca ccgagcagga ctccaaggac agcacctact ccctgtcctc caccctgacc 540
ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600
ctgtccagcc ctgtgaccaa gtccttcaac cggggcgagt gc 642