

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 437 571**

51 Int. Cl.:

C12N 15/13 (2006.01) **G01N 33/53** (2006.01)

C12N 15/85 (2006.01) **G01N 33/577** (2006.01)

C12N 5/10 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 31/7088 (2006.01)

A61K 35/12 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

A61P 37/04 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.11.2005 E 05802650 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2013 EP 2171060**

54 Título: **Anticuerpos anti-CD28 superagonistas**

30 Prioridad:

11.11.2004 DE 102004055622

11.05.2005 EP 05010264

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

13.01.2014

73 Titular/es:

**THERAMAB LLC (100.0%)
8 STR. 1 NAUCHNY PROEZD
MOSCOW 117246, RU**

72 Inventor/es:

**HANKE, THOMAS;
TRISCHLER, MARTIN y
GUNTERMANN, CHRISTINE**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 437 571 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 anti-CD28 superagonistas

5 El invento se refiere a un ácido nucleico que codifica una molécula de unión, que se une específicamente a una molécula CD28 humana, que comprende

(a) una secuencia de ácido nucleico que codifica una región V_H y una secuencia de ácido nucleico que codifica una región V_L, que comprenden unas CDRs en un armazón de inmunoglobulina humana y

10 (b) una secuencia de ácido nucleico que codifica una región constante de un anticuerpo IgG1 o IgG4 humano.

15 La estimulación de los linfocitos T en reposo para la activación, la proliferación y la diferenciación funcional requiere la ocupación de dos estructuras superficiales, a saber los denominados receptores: 1. del receptor de antígenos, que posee una especificidad diferente de una célula a otra, y es necesario para el reconocimiento de unos antígenos, p.ej. de productos víricos de disociación; así como 2. de la molécula CD28 expresada de igual manera en todas las células T en reposo con la excepción de un subconjunto de las células T de CD8 de seres humanos, que se une de un modo natural a unos ligandos situados sobre la superficie de otras células del sistema inmunitario. Se habla de la estimulación concomitante de la reacción inmunológica específica para antígenos por medio de la CD28. En un cultivo de células se pueden recrear estos procesos mediante la ocupación del receptor de antígenos así como de la molécula CD28 con unos adecuados anticuerpos monoclonales (mAb's). En el sistema clásico de la estimulación concomitante, ni la ocupación del receptor de antígenos ni la de la molécula CD28 a solas dan lugar a la proliferación de las células T, pero la ocupación de los dos receptores es no obstante eficaz. Esta observación se realizó en células T de un ser humano, de un ratón y de una rata.

25 No obstante, se conocen también unos mAb's específicos para la CD28, que pueden inducir la proliferación de las células T sin ninguna estimulación concomitante. Una tal activación superagonista, es decir independiente de la ocupación del receptor de antígenos, de los linfocitos T en reposo mediante unos mAb's específicos para la CD28, es conocida a partir de la cita bibliográfica de Tacke y colaboradores, Eur. J. Immunol., 1997, 27:239-247. Según esto, se describieron dos tipos de anticuerpos monoclonales específicos para la CD28 con diferentes propiedades funcionales: unos mAb's concomitantemente estimuladores, que estimulan concomitantemente la activación de células T en reposo solamente en el caso de una simultánea ocupación del receptor de antígenos; y unos mAb's superagonistas, que pueden activar la proliferación de linfocitos T de todas las clases in vitro y en ratas sin ninguna ocupación del receptor de antígenos.

35 A partir del documento de patente alemana DE 101 60 516.1 así como de la cita bibliográfica de Lühder y colaboradores, J. Exp. Med., 2003, 197: 955-966, se conocen asimismo unos mAb's superagonistas con una especificidad para la molécula CD28 de seres humanos, que activan y expanden muy eficazmente a los linfocitos T in vitro sin ninguna estimulación del receptor de antígenos de las células T (TCR). Aquí se hizo uso, sin embargo, unos anticuerpos inmovilizados, que, tal como se ilustra más abajo, no son apropiados para usos terapéuticos.

45 Por lo demás, los anticuerpos anti-CD28 superagonistas mostraron, en modelos de animales y en cultivos de células, unas pronunciadas propiedades anti-inflamatorias. Así, por ejemplo, tal como se explica en la cita de Schmidt y colaboradores, J. Neuroimmunol., 2003, 140: 143-152, la utilización de un mAb superagonista dirigido contra la molécula CD28 de una rata puede evitar la formación de una enfermedad neurológica periférica inflamatoria, la neuritis autoinmunitaria experimental, EAN. A partir del documento DE 102 12 108.7 así como de la cita de Lin y colaboradores, Eur. J. Immunol., 2003, 33:626-638, se conoce que unos anticuerpos anti-CD28 superagonistas pueden dar lugar a una fuerte activación, superior a la proporcional, de las células T reguladoras. La función de las células T reguladoras consiste en controlar a las células T autoagresivas y procurar que, de un modo general, no se llegue a ninguna reacción inflamatoria excesiva (Schwartz, Nature Immunol., 2005, 6: 327-330) No obstante, una intervención en la estimulación concomitante mediada por la CD28 puede desplazar el equilibrio entre Th1 y Th2 en favor del fenotipo Th1 pro-inflamatorio y alberga por lo tanto el peligro de empeorar unas reacciones autoinmunitarias o inflamatorias (véase más arriba la cita de Schmidt y colaboradores) .

55 Para los candidatos a constituir unos anticuerpos terapéuticos es digno de pretenderse, por motivos evidentes, evitar la inmunogenicidad, es decir la provocación de una respuesta inmunitaria contra la sustancia activa, con la meta de aprovechar totalmente la eficacia farmacológica en seres humanos, y simultáneamente reducir unos efectos secundarios indeseados. Con el fin de evitar la inmunogenicidad de unos anticuerpos, que no proceden de seres humanos, constituye un estado de la técnica, por ejemplo, la "humanización" de anticuerpos por medio de unos métodos de tecnología genética. En este contexto, se conserva el sitio de unión con antígenos de un anticuerpo que originalmente no procede de seres humanos, mientras que el resto de la molécula de anticuerpo, en particular las porciones constantes del anticuerpo (el dominio constante o el fragmento Fc) se intercambian por una variante estructuralmente similar que procede del material genético humano (Hwang y colaboradores, Methods, 2005, 36:

3-10).

Tal como se conoce a partir del documento DE 102 30 223.5, la reticulación transversal (o reticulación cruzada, en inglés "cross-linking") de unos anticuerpos anti CD28 humana superagonistas refuerza su capacidad de activar a los linfocitos T en una suspensión de células. Por ejemplo, la proliferación de unos linfocitos T purificados es reforzada en un valor múltiplo, cuando se utilizan unos anticuerpos superagonistas en forma de unos complejos moleculares inmovilizados sobre unas bolitas paramagnéticas, en lugar de presentarse en una forma soluble en la suspensión de células T. Para el uso galénico en seres humanos, la aplicación de unas formas de presentación, convertidas en complejos de tal manera, de unos anticuerpos anti CD28 superagonistas no es posible por motivos evidentes. Por lo demás, en el documento DE 102 30 223.5 unos anticuerpos anti IgG de ratón inmovilizados sobre bolitas paramagnéticas pasaron a emplearse como un agente reticulador cruzado. También desde este punto de vista, no entra en cuestión el enfoque análogo para un uso terapéutico en seres humanos, puesto que se prohíbe la utilización de unos anticuerpos anti-IgG humana por causa de la gran cantidad de reacciones cruzadas que se deben de esperar. No en último término, el enfoque descrito en el documento DE 102 30 223.5 está restringido a un procedimiento in vitro, en cuyo caso pasan a emplearse unas células T purificadas. Para el desarrollo de unos anticuerpos anti-CD28 superagonistas terapéuticos se debería comprobar por consiguiente, si existe un adecuado formato de anticuerpo, que haga posible in vivo una reticulación cruzada suficiente, sin conseguir efectos indeseados de ningún tipo.

Es conocido el hecho de que un reconocimiento natural y una reticulación transversal o cruzada de unos dominios Fc de anticuerpos es mediada en el cuerpo humano por unos receptores Fc, que son expresados en diferentes tipos de células (Woof y colaboradores, Nature Reviews Immunol., 2004, 1-11). El objetivo de la unión con anticuerpos, mediada por el receptor Fc en el contexto fisiológico es "retirar de la circulación" o destruir a unas células cargadas con anticuerpos, puesto que se ha de partir del hecho de que los anticuerpos son formados solamente contra las células que proceden de un tejido ajeno, están infectadas por bacterias o virus, estresadas o degenerado malignamente. Unos importantes mecanismos, mediados por receptores Fc para la eliminación de unas células cargadas con anticuerpos, son la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC acrónimo de Complement Dependent Cytotoxicity), la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC acrónimo de Antibody Dependent Cell Cytotoxicity) y la opsonización, es decir la caracterización para la fagocitosis por medio de unos macrófagos especializados.

Los receptores Fc, que son responsables del reconocimiento de unos dominios Fc de anticuerpos humanos del isotipo IgG, se pueden clasificar en los conjuntos de CD64 (el receptor Fc gamma I; un receptor altamente afin); CD32 (el receptor Fc gamma II; un receptor de afinidad intermedia) y CD16 (el receptor Fc gamma III; un receptor de baja afinidad). Sus propiedades de unión a anticuerpos de los subconjuntos de IgG, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 así como las funciones efectoras provocadas por la unión a estos anticuerpos, son ampliamente conocidas (Woof y colaboradores, Nature Reviews Immunol., 2004, 1-11). Así, la estimulación de unos receptores Fc, que se unen con la IgG1 o respectivamente la IgG4 (la CD64 se une fuertemente con la IgG1, y moderadamente con la IgG4; la CD32 se une débilmente con la IgG1, no se une con la IgG4; la CD16b se une fuertemente con IgG1, se une muy débilmente o no se une con la IgG4), da lugar por regla general también a una eliminación de las células diana a través de una ADCC o CDC.

Resumiendo, por consiguiente, a partir del estado de la técnica es conocido el hecho de que la reticulación cruzada, cuando ella es provocada por unas moléculas presentes en el cuerpo humano, va acompañada predominantemente por una eliminación de las células cargadas con anticuerpos.

El documento DE10230223 A1 divulga la producción de un anticuerpo monoclonal hulgG-5.11, específico para CD28, que es un mAb totalmente humanizado del isotipo IgG4, y se deriva de un mAb procedente de la DSM ACC2530. Las secuencias de estos anticuerpos no fueron divulgadas.

Los documentos de solicitudes de patentes internacionales WO 03/078468A y WO 03/048194A divulgan la región VH y la región VL de un mAb humanizado, que se deriva de un mAb procedente de la DSM ACC2530.

Conforme a ello, la misión en el caso del desarrollo de unos anticuerpos anti-CD8 superagonistas terapéuticos consistió en encontrar un formato de anticuerpo, que por una parte se pueda reticular de manera cruzada en el cuerpo por medio de unas estructuras o moléculas presentes fisiológicamente, por ejemplo unos receptores Fc. Por otra parte, una tal reticulación cruzada no debe de dar lugar a una eliminación o destrucción (esencial) de la estructura diana propiamente dicha del anticuerpo, a saber las células T CD28⁺. El problema planteado por esta misión es resuelto por las formas de realización puestas a disposición en las reivindicaciones.

De un modo correspondiente, el invento se refiere a un ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 1.

El concepto de "ácido nucleico", en conexión con el presente invento, se refiere a una molécula de ácido nucleico o a varias moléculas de ácidos nucleicos, que en su totalidad codifican la molécula de unión conforme al invento. Las

regiones codificadoras para los componentes de la molécula de unión conforme al invento pueden ser abarcadas por consiguiente por una molécula de ácido nucleico o pueden encontrarse en dos o más que dos distintas moléculas de ácidos nucleicos. En particular, las regiones codificadoras para la región V_H y la región constante de la cadena pesada de la IgG1 o IgG4 pueden encontrarse en una molécula de ácido nucleico y la región V_L y la región constante de la cadena ligera de la IgG1 o IgG4 puede encontrarse en una segunda molécula de ácido nucleico. La región constante de la cadena ligera puede corresponder tanto a la secuencia de un gen κ como también a la de un gen λ, que codifican las regiones constantes de unas cadenas ligeras humanas. De un modo correspondiente al invento, en la molécula de unión, que es codificada por el (los) ácido(s) nucleico(s) conforme(s) al invento, la región V_H o respectivamente la región V_L está unida funcionalmente con la región constante, tal como se da el caso, por ejemplo, en un anticuerpo. Asimismo, se da por entendido que la(s) cadena(s) codificada(s) de polipéptido(s), después de su síntesis, se pliegan o respectivamente se ensamblan de tal manera que la región V_H y la región V_L pasan a encontrarse en una vecindad espacial, y forman un sitio de unión con un antígeno. También esto es ejemplificado por un anticuerpo.

El concepto de "comprende" significa por una parte "contiene" (junto a otros objetos) y por otra "se compone de éstos (sin la inclusión de otros objetos). La molécula CD28 es, tal como se ha descrito más arriba, una molécula transmembranal, que es expresada como un homodímero sobre la superficie de las células T. La secuencia de aminoácidos de la CD28 humana puede ser consultada bajo el número de acceso al GenBank (banco de genes) NM_006139.

La expresión "superagonista" describe en el contexto del presente invento una propiedad de las moléculas de unión conformes al invento, que mediante una unión específica o una interacción con un epítipo determinado de la molécula CD28 hacen posible una activación de los linfocitos que es independiente del receptor de antígeno. Por consiguiente, una "estimulación superagonista" corresponde a la activación de las células T CD28⁺, sin que sea necesaria una estimulación concomitante de la proliferación, es decir otro suceso de unión junto a una unión o interacción del anticuerpo específico para CD28 para la estimulación de la proliferación. Una tal activación puede ser detectada, entre otras maneras, a través de una detección de unos marcadores de la activación sobre las células, la inducción de ciertos factores de la transcripción, a través de una proliferación o de la expresión o segregación de citocinas.

Por el concepto de la activación y/o expansión de las células T se entiende en particular la multiplicación de la actividad metabólica, el aumento del volumen celular, la síntesis de unas moléculas importantes inmunológicamente, tales como CD71 o CD25, y el comienzo de la división celular (la proliferación) como consecuencia de un estímulo externo. De manera preferida, como resultado, después la activación o respectivamente expansión están presentes más células T que antes de ella.

Los conceptos de "región V_H" y "región V_L" son conocidos por lo general para un experto en la especialidad y describen dentro del estado de la técnica el dominio situado en el extremo terminal de amino de un anticuerpo, que resulta durante la maduración de los linfocitos B mediante una recombinación de los segmentos génicos V, D y J. Las regiones variables de las cadenas pesada y ligera de los anticuerpos son responsables de la unión o interacción específica de un anticuerpo a o con su epítipo específico (compárese la cita de Haseman y Capra "Immunoglobulins: Structure and Function" [Inmunoglobulinas: estructura y función, en "Fundamental Immunology" (Inmunología fundamental) (compilador de edición W. E. Paul), Raven Press, Nueva York, 2^a edición 1989). Las regiones V_H y V_L pueden ser combinadas mediante unos procedimientos recombinantes también con unas estructuras distintas de las regiones C que se presentan naturalmente.

El concepto de "CDR" (acrónimo de "complementarity determining regions" = regiones determinantes de complementariedad) describe unas regiones, que determinan la complementariedad de los receptores del sistema inmunitario, en particular de anticuerpos y receptores de células T. Éstas son conocidas para un experto en la especialidad como regiones de un receptor, que entran en contacto con el ligando y que determinan la especificidad del receptor. Las CDRs son las partes más variables de los receptores y son responsables de su diversidad. Ejemplos de tales receptores comprenden anticuerpos. En cada caso tres de los bucles se encuentran junto a los extremos distales de los dos dominios variables de anticuerpos. Éstos son numerados por regla general como CDR-H1 hasta CDR-H3 en la cadena pesada y CDR-L1 hasta CDR-L3 en la cadena ligera de los anticuerpos.

La secuencia de aminoácidos de una CDR o de varias CDRs puede ser determinada por un experto en la especialidad a partir de una conocida secuencia de aminoácidos de un anticuerpo, de un fragmento de anticuerpo o de un derivado. Las CDRs más arriba mencionadas han sido determinadas de modo correspondiente al procedimiento de Kabat modificado (combinación de AbM y Kabat). Esto resulta, entre otras, de las reglas "How to identify the CDRs by looking at a sequence" [Cómo identificar las CDRs observando una secuencia], expuestas en la página de internet de Andrew C.R. Martin (<http://www.bioinf.org.uk/abs/>). Alternativamente, conforme al invento, se pueden utilizar las reglas para la determinación de las CDRs de las moléculas de unión descritas de acuerdo con Kabat (véanse las citas de Kabat E. A., y colaboradores 1991: Sequences of Proteins of Immunological Interest [Secuencias de proteínas de interés inmunológico] (5^a edición). Publicación del NIH N° 91-3242, así como de

- Johnson, G. y Wu., T. T. 2000, Nucleic Acids Research). En este caso, en las formas de realización conformes al invento son válidas las secuencias de CDRs determinadas según Kabat y que han sido representadas en la Figura 17 así como resaltadas en las Figuras 2 y 6. Esto significa además, que las regiones de armazón (en inglés "framework") se modifican ligeramente, pero sin que se modifique o se deba de modificar la secuencia total de la molécula de unión. Tal como se ha mencionado: las CDRs de las moléculas de unión conformes al invento de acuerdo con el sistema de Kabat, así como también del sistema combinado de AbM y Kabat se han representado en la Figura 17. Por ejemplo, la secuencia de la CDR - H1 de acuerdo con el sistema modificado de Kabat es establecida por la secuencia GYTFTSYIH, y según el procedimiento habitual de Kabat por la secuencia SYIH.
- 5 El concepto de "armazón de inmunoglobulina humana" (en inglés "Immunoglobulin-Framework") describe la totalidad de aquellos segmentos de la secuencia de aminoácidos en el estado plegado, que están situados en la región variable de un anticuerpo humano entre las CDRs así como en los extremos terminales de N y C de éstas, y que preestablecen el armazón espacial (conformación estérica) de la inmunoglobulina.
- 10 El concepto de "región constante" es conocido para un experto en la especialidad, entre otras, a partir de la obra de Janeway y Travers (Immunologie [Inmunología], 2ª edición, Spektrum Akademischer Verlag, véase también la referencia de W. E. Paul, más arriba). Los anticuerpos humanos del isotipo IgG comprenden las subclases IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Conforme al invento, en las moléculas de unión pasa a emplearse una región constante de un anticuerpo IgG1 o IgG4 humano. El concepto de "se unen o interactúan con" es definido en el contexto del presente invento como una unión o interacción de un "sitio de unión con antígenos" con un epítipo. El concepto de "sitio de unión con antígenos" define, en coincidencia con el presente invento, un motivo de un polipéptido o de una molécula de unión, que es adecuado para interactuar con un antígeno específico de uno de los conjuntos de antígenos. Una tal unión o interacción específica es definida también como un "reconocimiento específico" de un antígeno. Un reconocimiento específico de un antígeno es, conforme al invento, una unión específica a, o una interacción específica con, por lo menos dos, de manera preferida tres, de manera más preferida por lo menos cuatro, aminoácidos de un antígeno. La parte del antígeno, que se une o interactúa con el sitio de unión con antígenos, es designada como epítipo. El antígeno para las moléculas de unión conformes al invento es la molécula CD28. Esta unión o interacción específica da lugar a la inducción de una señal superagonista (una activación o estimulación) en una célula CD28⁺. Una unión o interacción específica puede ser descrita también con el "principio de llave y cerradura". Unos motivos específicos en una secuencia de aminoácidos del sitio de reconocimiento de antígenos y del antígeno se unen unos a otros debido a su estructura primaria, secundaria o terciaria.
- 15 El concepto de "interacción específica", se entiende dentro del contexto del presente invento en el sentido de que la molécula de unión no reacciona de manera cruzada o no lo hace de un modo no significativo con unos (poli) péptidos, que tienen una estructura similar a la del antígeno reconocido específicamente, y son expresados en las mismas células. La reactividad cruzada de un conjunto de moléculas de unión puede ser investigada p.ej. mediante la determinación de las propiedades de unión y de las fuerzas de unión en condiciones usuales (véanse, entre otras, las obras de Harlow y Lane, Antibodies: A Laboratory Manual [Anticuerpos: un manual de laboratorio], Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988; y Using Antibodies: A Laboratory Manual [Uso de anticuerpos: un manual de laboratorio], Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999). Por la definición de "unión o interacción con" son abarcados explícitamente también los epítopos de conformación, los epítopos estructurales y los epítopos discontinuos, que se componen de dos o más regiones de un antígeno (los restos de diferentes regiones de una o varias cadenas de polipéptidos) y un "epítipo natural" (véanse las citas de Sela, (1969) Science, 166, 1365 y de Laver, (1990) Cell 61, 553-6).
- 20 El concepto de "reticulación cruzada o reticulación transversal" describe el establecimiento de una proximidad espacial entre varias moléculas de unión, que están unidas a, o interactúan con, el antígeno específico, con lo cual se llega a una unión multivalente con la molécula diana (epítipo específico) CD28. En el caso de las moléculas de unión conformes al invento se prefiere una reticulación cruzada o una reticulación transversal a través del fragmento F_c del anticuerpo IgG humanizado. Esto se puede conseguir p.ej. mediante una unión de este fragmento con los receptores F_c en linfocitos u otras células. Las moléculas de unión conformes al invento (que son codificadas por los ácidos nucleicos conformes al invento) tienen la sorprendente propiedad de que las células CD28⁺ pueden ser activadas o estimuladas por unas moléculas de unión reticuladas de manera cruzada, sin ser eliminadas.
- 25 El concepto de "molécula de unión" se utiliza en conexión con el invento para la descripción de un conjunto de moléculas, que pueden aparecer tanto como unos monómeros, como también como unos di-, tri- u oligómeros. Los di-, tri- u oligómeros pueden ser tanto unos homómeros, como también unos heterómeros. De manera preferida, las cadenas individuales de los di-, tri- u oligómeros están unidas entre sí por enlaces covalentes. En particular, en este contexto se prefieren unos enlaces covalentes a través de unos puentes de disulfuro. Alternativamente, los di-, tri- u oligómeros pueden ser unidos también a través de unas interacciones no covalentes. Unas correspondientes di-, tri- u oligomerizaciones pueden producirse p.ej. por medio de unas interacciones de unos motivos específicos de secuencias en las moléculas individuales. Un ejemplo de una tal interacción intrínseca es la interacción de monómeros a través de un "motivo cremallera de leucina", que da lugar a una dimerización.
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60

Como punto de partida para las moléculas de unión CD28 superagonistas conformes al invento sirvió el anticuerpo anti CD28 humana de ratón 5.11A1, descrito en la cita de Luhder y colaboradores, J. Exp. Med., 2003, 197: 955-966. Las regiones variables de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo 5.11A1 fueron humanizadas por tecnología genética de un modo correspondiente al estado de la técnica. Esta técnica es conocida para un experto en la especialidad, entre otras, como "injerto de CDR" (en inglés "CDR-grafting") (véanse las citas de P. T. Jones y colaboradores, 1986, Nature 321: 522-525 así como Ewert y colaboradores, 2004, Methods, 34: 184-199). Las regiones variables humanizadas fueron fusionadas con la región constante de unos anticuerpos humanos del isotipo IgG.

Es conocido el hecho de que para el empleo terapéutico se adecuan en principio todos los isotipos de IgG (IgG1-4). Como es conocido, la gran mayoría de los anticuerpos, que se encuentran en desarrollo terapéutico posee un principio de acción neutralizadora, bloqueadora o destructora (negativo), y se diferencian de este modo fundamentalmente del principio de acción superagonista (positivo) que se pretende conseguir aquí. La elección conforme al invento de los isotipos Ig1 e Ig4 como unos formatos terapéuticos de anticuerpos anti-CD28 superagonistas se basa en las siguientes consideraciones y en los siguientes hallazgos experimentales sorprendentes: la base del principio conforme al invento es la elección de unos fragmentos F_c del isotipo IgG1 o respectivamente IgG4. Los anticuerpos IgG1 se pueden reticular transversalmente de manera eficaz por medio de unos receptores F_c, que están presentes en el cuerpo. Esto debería ser propicio para el principio de acción superagonista (véase también la cita de Evans y colaboradores, Nature Immunol., 2005, 6: 271-279). En el sentido opuesto se manifestaba el hecho de que se podía esperar que una tal reticulación transversal condujese a una eliminación de las células T, lo que se opondría al deseado principio de acción, o respectivamente que se debería de esperar que el deseado principio de acción fuese desbaratado por esta eliminación. En el caso del isotipo IgG4, conforme al estado de la técnica, se podía esperar que este isotipo se opusiese a la actividad deseada. Para éste se describió p.ej. un efecto provocador de una citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC); véase la cita de Isaacs y colaboradores, Clin. Exp. Immunol., 106: 427-433. Además de ello, a causa de la ausencia de una unión o de la muy pequeña unión con el receptor F_c, que era de esperar, no se podía partir del hecho de que este isotipo favoreciese una activación de células T, por ejemplo en un cultivo de leucocitos de sangre periférica.

Después de la puesta a disposición de las moléculas de unión conformes al invento se comprobó sorprendentemente que éstas estimulan de un modo superagonista a las células T. Este hecho se ha puesto de manifiesto para los anticuerpos de los isotipos IgG1 (TGN1112) e IgG4 (TGN1412) en los Ejemplos adjuntos y en los resultados experimentales representados en las Figuras 1 hasta 8. Las cadenas pesada y ligera de TGN1412 se han representado respectivamente en las SEQ ID No.: 14 y 16. La SEQ ID No.: 30 y 32 muestran las secuencias de aminoácidos de las cadenas pesada y ligera de TGN1112. Tal como se puede deducir de las Figuras 1 hasta 8, tanto las cadenas ligeras como también las cadenas pesadas de los anticuerpos TGN1112 y TGN1412 son sintetizadas primeramente con un péptido de señal (que en las Figuras se designa como péptido director). El péptido de señal determina la dirección a un objetivo dentro de la célula y ya no está presente en la cadena ligera madura o respectivamente en la cadena pesada madura. En lo que respecta a la cadena pesada de TGN1412 se ha de señalar todavía, que en el caso de la expresión en células CHO se observaron dos variantes del extremo terminal de C, que se diferencian en un adicional resto de aminoácido (Fig. 2). Las secuencias de ADN, inclusive los intrones y las UTRs (acrónimo de "Untranslated Regions" = regiones no traducida) y la región que codifica el péptido de señal se han expuesto para las cadenas pesada y ligera de TGN1412 en las SEQ ID No.: 41 y 43; para las cadenas pesada y ligera de TGN1112 éstas se han expuesto en las SEQ ID No.: 45 y 47. Las secuencias de aminoácidos codificadas por éstas se han representado en las SEQ ID No.: 42, 44, 46 y 48.

En una forma preferida de realización, el presente invento pone a disposición por consiguiente los anticuerpos anti-CD28 solubles TGN1412 y TGN1112 para la estimulación policlonal de los linfocitos T, CD4 y CD8 humanos, de un modo nuevo e independiente del TCR. Fue inesperado el hallazgo de que los TGN1412 y TGN1112, en una forma soluble, activan y expanden ex vivo a los linfocitos T de una manera muy eficiente. Este hallazgo fue sorprendente en particular para el TGN1412, puesto que, por una parte, la reticulación transversal del anticuerpo es necesaria para el principio de acción superagonista, pero, por otra parte, no era detectable ninguna unión a receptores F_c con una afinidad alta o intermedia. Para el TGN1112 este hallazgo fue sorprendente, puesto que el anticuerpo media en un cultivo de células por una citotoxicidad dependiente de anticuerpos fuertemente pronunciada frente a las células T (Fig. 16), pero simultáneamente, induce una proliferación muy fuerte (Fig. 10A). Frente al anticuerpo de partida 5.11A1, tanto el TGN1412 como también el TGN1112 se distinguen por el hecho de que ellos están en situación de mantener la muerte celular (apoptosis) inducida por la activación de los linfocitos T humanos a un nivel muy bajo en un cultivo de células (Fig. 15). Este resultado pone en consideración que, también en un ser humano, los TGN1412 y TGN1112 deberían de estar en situación de activar y expandir a los linfocitos T de un modo muy efectivo y moderado.

El ácido nucleico conforme al invento comprende además de manera preferida una secuencia de ácido nucleico, siendo la secuencia de ácido nucleico

- (i) la SEQ ID No.: 13, 29, 41 o 45; y/o siendo copiado
- (ii) un polipéptido con la secuencia de aminoácidos SEQ ID No.: 13, 30, 42 o 46.

Asimismo, se prefiere un ácido nucleico, que comprende una secuencia de ácido nucleico, siendo la secuencia de ácido nucleico

- 5 (i) la SEQ ID No.: 15 ó 43; y/o siendo copiado
 (ii) un polipéptido con la secuencia de aminoácidos SEQ ID No.: 16 o 44.

Además de ello, un objeto preferido del invento que un ácido nucleico conforme al invento consiste en que una secuencia de ácido nucleico ha de comprender adicionalmente una secuencia de ácido nucleico, que codifica un elemento marcador o una marca (en inglés "Tag").

10 El concepto de "elemento marcador" o "marca" describe, en conexión con el invento, un elemento, que media en la capacidad para la interacción con un conocido partícipe en la unión. Esta interacción, por su parte, abre nuevos usos tales como una purificación (facilitada) o un aislamiento así como una detección o comprobación.

15 Los elementos marcadores o las marcas conformes al invento se pueden escoger, a modo de ejemplo, entre un conjunto, que se compone de las His-tag, Flag-tag, Myc-tag, HA-tag, GST-tag, T100™, VSV-G, V5, S-tag™, HSV, CFP, RFP, YFP, GFP, BFP, el dominio de fijación de celulosa (CBD, acrónimo de "Cellulose binding domain"), la proteína de fijación de maltosa (MBP, acrónimo de "Maltose binding protein"), NusA-tag, tiorredoxina (Trx), DsbA, DabC y una secuencia de biotilación. Alternativamente a esto o respectivamente en particular el elemento
 20 marcador puede ser una marcación radiactiva, fluorescente, fosforescente o luminiscente. Las marcaciones radiactivas incluyen unas marcaciones con ³²P (en el caso de ácidos nucleicos) y con ¹²⁵I ó ¹³²I (en el caso de proteínas).

25 En una forma alternativa de realización, el presente invento se refiere a un vector que comprende uno o varios de los ácidos nucleicos conformes al invento más arriba descritos.

Para un biólogo molecular como experto en la especialidad son conocidos un gran número de vectores adecuados. La elección de un vector depende en este contexto de las propiedades deseadas e incluye plásmidos, cósmidos, virus, bacteriófagos y otros vectores utilizados convencionalmente en la tecnología genética. Para la producción de
 30 diferentes vectores se pueden utilizar unos procedimientos conocidos de un modo general; véanse, entre otras, las citas de Sambrook y colaboradores Molecular Cloning: A Laboratory Manual [Clonación molecular: un manual de laboratorio]; Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2ª edición de 1989 y 3ª edición de 2001; Gerhardt y colaboradores; Methods for General and Molecular Bacteriology [Métodos de bacteriología general y molecular]; ASM Press, 1994; Lefkovits; Immunology Methods Manual: The Comprehensive Sourcebook of Techniques [Manual de métodos de inmunología: El libro fuente amplio de técnicas]; Academic Press, 1997; Golemis; Protein-Protein Interactions: A Molecular Cloning Manual [Interacciones de proteína con proteína: Un manual de clonación molecular]; Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2002 y Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology [Protocolos usuales en la biología molecular], Green Publishing Associates y Wiley Interscience, N.Y. (1989), (1994).

40 Las secuencias de nucleótidos que deben de ser expresadas pueden ser clonadas en unos adecuados vectores de expresión. Unos usuales vectores de clonación comprenden los pBluescript SK, pGEM, pUC9, pBR322 y pGBT9. Unos usuales vectores de expresión comprenden, entre otros, los pTRE, pCAL-n-EK, pESP-1, pOP13CAT, pKNOH2 y pLNOK (Norderhaug y colaboradores, 1997. J. Immunol. Methods, 204: 77-87).

45 Un vector conforme al invento comprende usualmente una "secuencia reguladora", que está unida funcionalmente con las secuencias de nucleótidos que deben de ser expresadas. El concepto de "secuencia reguladora" describe a unas secuencias de ADN, que son necesarias para iniciar la expresión de una secuencia codificada. Las propiedades de tales secuencias de control se diferencian en dependencia de un organismo anfitrión. El concepto de "unidas funcionalmente" describe una disposición, en la que los mencionados componentes están dispuestos de un
 50 modo adecuado para la expresión. La disposición adecuada es conocida para un experto en la especialidad.

De manera preferida, el vector descrito es un vector de expresión. Un vector de expresión es una construcción artificial, que es apropiada para la transformación de un anfitrión escogido y que hace posible una expresión de la secuencia codificada en el anfitrión. Los vectores de expresión pueden ser de un modo correspondiente unos
 55 vectores de clonación, unos vectores binarios o unos vectores integrados. La expresión comprende la transcripción del ácido nucleico, de manera preferida en un ARNm traducible. Unos elementos reguladores, que garantizan una expresión en células procarióticas y/o eucarióticas, son conocidos para un experto en la especialidad. Las secuencias de control para los procariotas comprenden por lo general un promotor, un sitio de unión ribosómico y un terminador. Unos posibles elementos reguladores para anfitriones procarióticos comprenden p.ej. los promotores de PL, lac, trp o tac procedentes de E. coli. Unas secuencias de control para células eucarióticas comprenden por lo general unos promotores y terminadores y en determinadas circunstancias unos intensificadores, transactivadores o sitios de unión para factores de la transcripción. Los promotores garantizan una iniciación de la transcripción. Los terminadores, tales como unas señales de poliA, garantizan una terminación de la transcripción y una estabilización del transcrito. Unos ejemplos de elementos reguladores para células anfitrionas eucarióticas son p.ej. el promotor de

AOX1 o GAL1 para levaduras, o los promotores de CMV, de SV40, de RSV (acrónimo de "Rous Sarcoma Virus"), el intensificador de CMV, el intensificador de SV40 o un intrón de globina para células de mamíferos u otras células de animales. En este contexto, unos vectores de expresión conocidos a partir del estado de la técnica comprenden, entre otros, unos vectores tales como el vector de expresión de ADNc de Okayama-Berg pcDV1 (de Pharmacia), los pCDM8, pRc/CMV, pcDNA1, pcDNA3 (de InVitrogen), pEF- DHFR y pEF- ADA (Raum y colaboradores Cancer Immunol Immunother (2001) 50 (3), 141- 150) , pSPORT1 (GIBCO BRL), así como pKNOH2 y pLNOK (Norderhaug y colaboradores, 1997. J. Immunol. Methods, 204: 77- 87) .

El concepto de "secuencia de control" se utiliza como una descripción de todas las secuencias necesarias para una expresión en un anfitrión escogido y puede comprender por consiguiente otros componentes.

Con el invento, un anfitrión puede ser producido, transformado o transfectado con un vector más arriba descrito.

Este anfitrión puede ser un procarionota o de manera preferida una célula eucariótica. El concepto de "anfitriones procarionóticos" comprende en el contexto del invento todas las eubacterias y arqueobacterias, que pueden ser transformadas con los ácidos nucleicos. Este conjunto comprende por consiguiente unas bacterias gram-negativas así como unas bacterias gram-positivas, tales como p.ej. E. coli., S. typhimurium, Serratia marcescens y Bacillus subtilis. Las células eucarióticas comprenden, entre otras, las de levaduras, células de plantas superiores, insectos y, de manera preferida, células de mamíferos, tales como las células CHO, COS-7, NS0 y Per.C6.

El invento se refiere además a un procedimiento para la producción de esta molécula de unión, que es codificada por uno o varios de los ácidos nucleicos más arriba descritos, el cual comprende la cultivación del anfitrión en unas condiciones adecuadas; y el aislamiento de la molécula de unión a partir del cultivo.

El anfitrión transformado o transfectado puede ser cultivado en un fermentador. Los protocolos para una cría o cultivación de diferentes anfitriones son conocidos para un experto en la especialidad. Éstos pueden ser determinados y optimizados sin otra actividad inventiva. Asimismo, un experto en la especialidad conoce unos procedimientos para el aislamiento de un (poli)péptido recombinante tal como de la molécula de unión conforme al invento a partir de un cultivo o respectivamente de un material sobrenadante del cultivo. Tales procedimientos de aislamiento comprenden entre otros procesos, una precipitación con sulfato de amonio, unas purificaciones por afinidad (p.ej. con ayuda de unas columnas de cromatografía), una electroforesis en gel y otros similares: véanse, entre otras, las obras de Scopes, "Protein Purification" [Purificación de proteínas], editorial Springer, N.Y. (1982) o Rehm, "Der Experimentator: Proteinbiochemie/Proteomics" [El experimentador: bioquímica de proteínas/proteómica], Spektrum, Akademischer Verlag. Unas preparaciones esencialmente puras de moléculas de unión con una homogeneidad de 90 a 95 %, de manera preferida de 98 a 99 %, o todavía más alta, son preferidas para las utilidades farmacéuticas.

En otra forma de realización, el invento se refiere a una molécula de unión, que ha sido codificada por un ácido nucleico conforme al invento o por varios ácidos nucleicos conformes al invento, o que ha sido producida con el procedimiento conforme al invento.

Se prefieren unos anticuerpos o fragmentos o derivados de un anticuerpo, que corresponden a una molécula de unión conforme al invento o que pueden contener a ésta.

Los fragmentos de anticuerpos abarcan, en el sentido del invento, unos fragmentos de los anticuerpos precedentemente descritos, que a la vez comprenden las propiedades específicas de unión de las regiones variables definidas, así como también disponen de una parte de la región constante de un anticuerpo IgG1 o IgG4, que hace posible una reticulación cruzada.

Los derivados de anticuerpos conformes al invento abarcan, pero no están restringidos a, unos anticuerpos o fragmentos de anticuerpos marcados, así como también unos anticuerpos o fragmentos de anticuerpos modificados químicamente. La marcación o modificación de los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos puede efectuarse posteriormente a la traducción o mediante una modificación química o bioquímica o de biología molecular. Estas modificaciones comprenden p.ej. una modificación de la glicosilación (Umana y colaboradores, 1999, Nature Biotech. 17: 176-180) y una PEGilación (Delgado y colaboradores, 1996. J. Drug Target. 3: 321-340).

De manera preferida, el anticuerpo conforme al invento es un anticuerpo monoclonal.

En una forma alternativa de realización, el invento se refiere a una composición, que comprende el ácido nucleico conforme al invento, un vector conforme al invento, un anfitrión, una molécula de unión y/o el anticuerpo o un fragmento o derivado de un anticuerpo.

Se prefiere que la composición conforme al invento sea una composición farmacéutica. Eventualmente, ésta puede contener, además de ello, un vehículo farmacéuticamente compatible, un excipiente farmacéuticamente compatible

o un agente de dilución farmacéuticamente compatible:

Una composición farmacéutica conforme al invento comprende, entre otras cosas, unos medicamentos y unas formulaciones medicamentosas. Ejemplos de unos adecuados vehículos o excipientes y agentes de dilución compatibles desde el punto de vista farmacéutico o farmacológico son conocidos para un experto en la especialidad. Éstos comprenden unas soluciones tamponadas de cloruro de sodio, agua, unas emulsiones tales como p.ej. emulsiones del tipo de aceite y agua, diferentes tipos de detergentes, soluciones estériles, etc. Unos medicamentos, que comprenden tales vehículos, pueden ser formulados mediante unos métodos convencionales conocidos. La composición farmacéutica conforme al invento puede ser administrada a un individuo en una dosis adecuada. La administración se puede efectuar por vía parenteral, p.ej. por vía intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, local, intranasal, intrabronquial o intradérmica, o a través de un catéter en un cierto lugar en una arteria. El modo de la dosificación es determinado por el médico que efectúa el tratamiento de un modo correspondiente a los factores clínicos. Para un experto en la especialidad es conocido el hecho de que el tipo de la dosificación depende de diferentes factores, tales como p.ej. el tamaño corporal o respectivamente el peso, la superficie corporal, la edad, el sexo o la salud en general del paciente, pero también del agente que debe de ser administrado especialmente, de la duración y del tipo de la administración, y de otros medicamentos, que posiblemente pueden ser administrados en paralelo. Una dosis típica puede estar situada p.ej. en un intervalo comprendido entre 0,001 y 500.000 µg, siendo concebibles unas dosis situadas por debajo o por encima de este intervalo ejemplificativo, sobre todo tomando en consideración los factores más arriba mencionados. Por lo general, en el caso de una administración regular de la composición conforme al invento, la dosis se debería encontrar en un intervalo comprendido entre unas unidades de 10 ng y 10 mg por día o respectivamente por intervalo de aplicación. Si la composición debiese de ser administrada por vía intravenosa, la dosis debería encontrarse en un intervalo comprendido entre unas unidades de 1 ng y 1 mg por kilogramo de peso corporal por minuto.

La composición farmacéutica conforme al invento puede ser administrada por vía local o sistémica. Las formulaciones para una administración por vía parenteral comprenden unas soluciones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas, estériles. Ejemplos de unos disolventes no acuosos son propilenglicol, un poli(etilenglicol), unos aceites vegetales tales como p.ej. aceite de oliva, y unos compuestos de ésteres orgánicos tales como p.ej. oleato de etilo, que son adecuados para inyecciones. Unos vehículos acuosos comprenden agua, unas soluciones acuoso-alcohólicas, unas emulsiones, unas suspensiones, unas soluciones salinas y unos medios tamponados. Los vehículos parenterales comprenden soluciones de cloruro de sodio, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro de sodio, lactato de Ringer y aceites fijados. Unos vehículos intravenosos comprenden p.ej. agentes de complemento líquidos, nutritivos y de electrolitos (tales como p.ej. los que se basan en la dextrosa de Ringer). La composición conforme al invento puede comprender además de ello unos agentes conservantes y otros aditivos, tales como p.ej. unos compuestos antimicrobianos, antioxidantes, agentes formadores de complejos y gases inertes, y/o unas sustancias que favorecen la solubilidad, tales como por ejemplo el Tween. Por lo demás, en dependencia de la utilización pretendida, pueden estar contenidos unos compuestos tales como p.ej. interleucinas, factores de crecimiento, factores de la diferenciación, interferones, proteínas quimiotácticas o un agente inmunomodulador inespecífico.

Alternativamente, se prefiere que la composición conforme al invento sea una composición de diagnóstico.

Asimismo, se prefiere que la composición conforme al invento sea un estuche, que comprende el/los ácido(s) nucleico(s), el vector, el anfitrión, la molécula de unión y/o el anticuerpo o un fragmento o un derivado de un anticuerpo, en uno o varios recipientes. De manera aún más preferida, este estuche comprende un folleto informativo. Éste puede comprender una descripción del estuche, de sus componentes y/o de su utilización. La descripción de la utilización puede comprender además de ello unas instrucciones de dosificación para un médico.

En una forma de realización, el invento se refiere a la utilización del/de los ácido(s) nucleico(s) conforme(s) al invento, del vector conforme al invento, del anfitrión conforme al invento, de la molécula de unión conforme al invento y/o del anticuerpo conforme al invento o de un fragmento o derivado de un anticuerpo conforme al invento para la preparación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento de enfermedades, que van acompañadas por una estimulabilidad concomitante, una funcionalidad o un número de células T errónea/o o deficiente, de enfermedades inflamatorias y/o enfermedades autoinmunitarias.

El invento se adecua para un procedimiento destinado al tratamiento de unas enfermedades, que van acompañadas por una estimulabilidad concomitante, una funcionalidad o un número de células T errónea/o, de enfermedades inflamatorias, y/o de enfermedades autoinmunitarias, que comprende la administración del/de los ácido(s) nucleico(s) conforme(s) al invento, del vector conforme al invento, del anfitrión conforme al invento, de la molécula de unión conforme al invento, y/o del anticuerpo conforme al invento o de un fragmento o derivado de un anticuerpo conforme al invento.

Se prefieren las utilizaciones y los procedimientos en el caso de que las enfermedades, que van acompañadas por una estimulación concomitante, una funcionalidad o un número de células T errónea/o, se escogen entre el conjunto que se compone de la leucemia crónicamente linfocitaria del tipo de células B (B-CLL), la leucemia linfoblástica

aguda (ALL), la linfopenia T, unos tumores sólidos, una infección causada por el HIV (virus de la inmunodeficiencia humana) y una infección causada por el HLTV (virus linfotrópico de células T humanas). Los tumores sólidos se escogen de manera preferida entre los carcinomas de riñón, los carcinomas de pulmón y los melanomas.

5 Se prefieren alternativamente ciertas/os utilizaciones y procedimientos, escogiéndose las enfermedades inflamatorias y autoinmunitarias entre el conjunto que se compone de artritis reumatoide (RA), diabetes mellitus del tipo I, esclerosis múltiple, psoriasis, síndrome de Guillain - Barré, enfermedad de Crohn, y unas enfermedades, que se deben de atribuir a unas reacciones indeseadas de activación de las células T tales como la enfermedad del injerto frente al anfitrión (GvHD, acrónimo de "graft versus host disease") o la enfermedad del anfitrión frente al injerto (HvGD, acrónimo de "host versus graft disease"). En el caso de las HvGDs, se toma especialmente en consideración el rechazo de unos trasplantes de órganos sólidos, tales como los de hígado, pulmón, corazón y riñón.

15 En otra forma alternativa de realización, el invento se refiere a la utilización del/de los ácido(s) nucleico(s) conforme(s) al invento, del vector conforme al invento, del anfitrión conforme al invento, de la molécula de unión conforme al invento y/o del anticuerpo conforme al invento o de un fragmento o derivado de un anticuerpo para la preparación de una composición de diagnóstico destinada al análisis in-vitro de la capacidad de respuesta de un paciente a una terapia con una composición farmacéutica.

20 Un análisis realizable in-vitro con esta composición de diagnóstico comprende por ejemplo las siguientes etapas:

- (a) el aislamiento de células sanguíneas a partir de una muestra de sangre (p.ej. de PBMCs, acrónimo de "peripheral blood mononuclear cells" = células mononucleares procedentes de sangre periférica", y/o linfocitos);
- 25 (b) la incubación de células sanguíneas con un anticuerpo conforme al invento y eventualmente la adición de un reactivo exógeno de reticulación cruzada;
- (c) la detección de una estimulación dependiente de anticuerpos de las células T en la muestra. Si se detecta una estimulación dependiente de anticuerpos de las células T en la muestra, entonces el paciente, del que procede la muestra, es capaz de responder a una terapia con una composición farmacéutica conforme al invento.

30 Las Figuras muestran:

Las Figuras 1-8: muestran las secuencias de nucleótidos o respectivamente de aminoácidos de las cadenas ligeras y pesadas de TGN1412 y TGN1112.

35 En la Figura 9: la especificidad de unión de los anticuerpos TGN1412 y 5.11A1 para la CD28 en células Jurkat transfectadas y en células T primarias humanas. Para las tinciones de inmunofluorescencia y la citometría de flujo pasante se incubaron en cada caso $1 - 2 \times 10^6$ células/ml en un tampón para FACS (acrónimo de "Fluorescence Activated Cell Sorting" = clasificación de células activada por fluorescencia) (PBS, BSA, aziduro de Na) con unas cantidades saturadoras de los anticuerpos 5.11A1 y TGN1412 unas cantidades irrelevantes de unos anticuerpos testigos específicos para un isotipo, durante 40 minutos a 4°C. Las tinciones se lavaron, con el fin de eliminar los anticuerpos en exceso, y antes del análisis se incubaron durante 15 minutos con unas cantidades saturadoras de una IgG anti-ratón conjugada con PE (para el 5.11A1) o respectivamente de una IgG anti-humano conjugada con PE (para el TGN1412). Las células se contratiñeron a continuación con anticuerpos anti-CD4. El análisis por citometría de flujo pasante se efectuó en un FACSCalibur™ con ayuda del software Cell Quest™ (de Becton Dickinson). Las señales de fluorescencia y de disipación lateral (ssc, acrónimo de "side-scatter") se registraron logarítmicamente, y las señales de disipación hacia adelante (fsc, acrónimo de "forward scatter") se registraron linealmente. Los histogramas muestran sin excepción unas señales de células, que están situadas en una puerta vital (en inglés "life-gate") empírica, definida por ssc y fsc. Ellas muestran la unión del 5.11A1 o del TGN1412 (curvas rellenas) en comparación con los anticuerpos testigos de isotipo (curvas abiertas) en células Jurkat, que no expresan ninguna CD28 (gráfico izquierdo) o que respectivamente habían sido transfectadas con CD28 (gráficos centrales), así como en células mononucleares procedentes de sangre periférica, positivas en cuanto a CD4 (PMBC, gráfico derecho).

60 En la Figura 10: la obtención de células y los ensayos de proliferación. Unas PBMC se aislaron mediante una centrifugación por densidades de Ficoll a partir de una sangre periférica recientemente obtenida o respectivamente a partir de unos revestimientos leucocitarios anteados (en inglés "buffy coats"), se lavaron y se llevaron a cultivo en una concentración de 2×10^5 células por cada pocillo con una capacidad de 200 µl en unas placas de fondo redondo de 96 pocillos. De un modo correspondiente a las leyendas, ellas fueron cultivadas con un TGN1112, un TGN1412, un 5.11A1 o unos anticuerpos testigo de isotipo todos ellos solubles, en una concentración de 1 µg/ml (A) o de un

modo correspondiente a la leyenda situada junto a las abscisas (B). Después de 48 horas se determinó la velocidad relativa de proliferación celular - representada como el valor medio en cómputos por minuto \pm la desviación típica ("mean cpm \pm SD") - mediante una incorporación de [*metil*-³H]timidina a lo largo de un período de tiempo de 18 horas y una subsiguiente medición de la escintilación en un líquido. Los resultados son representativos para múltiples determinaciones con diversos donantes.

5
La Figura 11: la obtención de las células, la estimulación de las PBMC y la preparación fueron tal como se ha descrito para la Figura 10. La estimulación por el TGN1112 se comparó con la de unos fragmentos F(ab)₂ de TGN1112, cuya calidad bioquímica y cuya unión específica a unos transfectantes de CD28 se habían mostrado previamente.

10
La Figura 12: la estimulación de unas células T CD4 y CD8 por el TGN1412. (A) Unas PBMC (acerca de la obtención y de las condiciones de cultivo véase la Figura 10) fueron estimuladas con el TGN 1412 (1 μ g/ml) o respectivamente con un anticuerpo testigo de isotipo durante los períodos de tiempo indicados. El estado del ciclo celular para las células CD4 o respectivamente CD8 fue determinado por tinción intracelular por medio de un anticuerpo anti-Ki-67 marcado con FITC. Para esto, unas células fueron incubadas con unos anticuerpos anti-CD4 PE humana o respectivamente anti-CD8 PE humana durante 15 minutos, lavadas e incubadas en el tampón Cytotfix/CytopermTM (de Becton Dickinson) durante 20 minutos a 4°C. Después de un lavado con el tampón Perm/WashTM (de Becton Dickinson), las células fueron teñidas durante otros 30 minutos a 4°C con anti-K-67- FITC, lavadas y ensayadas por citometría de flujo pasante tal como se ha descrito para la Figura 9. (B) Unas células T CD4+ o respectivamente CD8+ fueron obtenidas a partir de una suspensión de PBMC con ayuda de un adecuado estuche de aislamiento de células T y una subsiguiente separación con el AutoMACSTM (los dos de Miltenyl). La pureza comprobada por citometría de flujo pasante fue de 93-98 % para las células T CD4+ y de 81-95 % para las células T CD8+. Unas placas de fondo plano de 96 pocillos fueron revestidas con una Ig anti-humana (40 μ g/ml en PBS) durante 3 h a la temperatura ambiente y a continuación lavadas. Las células fueron cultivadas a continuación en una densidad de 1×10^5 / pocillo en común con el TGN1412 o con un anticuerpo de referencia. Como testigo positivo de la proliferación celular sirvió la adición de PHA (5 μ g/ml) y de IL-2 (200 U/ml). La proliferación se determinó después de 48 horas tal como se ha descrito para la Figura 10 y constituye un resultado representativo para diversos donantes.

15
20
25
30
La Figura 13 el análisis del repertorio TCR de unas PBMC estimuladas con el TGN1412. El análisis del repertorio TCR V [beta] de unas PBMC, que habían sido cultivadas durante 96 horas con el TGN1412 (1 μ g/ml) o respectivamente con un anticuerpo testigo IgG4, se efectuó con ayuda del repertorio V [beta] de IOTest® Beta Mark TCR, KitTM (de Beckman Coulter) según los datos del fabricante. Las muestras fueron contrateñidas con anticuerpos anti-CD3 y anti-CD4 tal como se ha descrito para la Figura 9. Se representa un resultado representativo de tres determinaciones, en cuyos casos la ventana de análisis se ajustó a unas células CD3+ CD4+.

35
40
La Figura 14 la medición de la apoptosis de células T mediada por anti-CD28. Unas PBMC (2×10^5 /ml) fueron incubadas con 5.11A1, TGN1412, TG1112 o anticuerpo testigo de isotipo, todos ellos solubles (1 μ g/ml) durante 72 horas. A continuación, las células fueron teñidas durante 15 minutos con APC anti-CD3 y fueron lavadas con un tampón para FACS. Las PBMC fueron resuspendidas en un tampón de fijación de anexina V (de BD Pharmingen) e incubadas con anti-anexina V y 7AAD durante 15 minutos. La apoptosis en el sentido de las células T (ventana CD3+), que eran positivas en cuanto a anexina V y permeables para 7AAD, se determinó mediante una citometría de flujo pasante en el transcurso de 1 hora.

45
50
La Figura 15: la inducción del receptor pro-apoptótico CD95 mediante unos anticuerpos anti-CD28. La estructura del ensayo corresponde a la que se ha descrito en la Figura 14. En lugar de la tinción con anexina V y 7AAD, unas PBMC se tiñeron con anti-CD3 FITC y CD95-PE, y se determinó la expresión de CD95 en células T CD3+ mediante una citometría de flujo pasante. Se muestra un resultado ejemplificativo para dos donantes diferentes.

55
60
La Figura 16: la inducción de una citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, ADCC. La ADCC de diversos anticuerpos anti-CD28 se determinó mediante una citometría de flujo pasante. Para esto, 5×10^4 células Jurkat CD28+ marcadas con calceína-AM se cultivaron concomitantemente con unas PBMC recientemente aisladas en presencia de 6 μ g/ml de los anticuerpos indicados en el caso de las representadas relaciones de efector : células diana (E : T) durante 3,5 horas. Las células se recogieron en el tampón para FACS con 0,5 μ g/ml de yoduro de propidio y se midieron por una citometría de flujo pasante. La relación de las células negativas para calceína o de las células débilmente positivas para calceína a las células positivas para yoduro de propidio ($\times 100$) 1 / a las

células positivas para calceína totales se determinó como la proporción porcentual de citotoxicidad. Se muestra un resultado representativo de unas determinaciones con células de diferentes donantes.

5 La Figura 17: muestra las CDRs de las moléculas de unión conformes al invento según el sistema Kabat y el sistema combinado de AbM y Kabat.

Los Ejemplos ilustran el invento. Los Ejemplos no deben de ser considerados como una restricción del invento. Los Ejemplos se adjuntan solamente para la ilustración del invento y el invento es restringido solamente por las reivindicaciones.

Ejemplo 1: Propiedades de unión de los anticuerpos conformes al invento con CD28, CD16b, CD32 y CD64

15 Se investigó si en el caso del proceso de humanización permaneció conservada la unión con la molécula CD28 de seres humanos. Tal como se ha mostrado para el TGN1412 a modo de ejemplo en la Fig. 9, éste era el caso para los dos isotipos.

20 A continuación, se determinaron las propiedades de unión de los TGN1412 y TGN112 con las CD16b, CD32 y CD64. Los resultados se han recopilado en la Tabla 1. Como era de esperar se puso de manifiesto que el TGN1112 se une con una afinidad bien detectable con las CD16 y CD64, pero no con la CD32, mientras que el TGN1412 interactuaba sólo débilmente y de manera exclusiva con la CD64.

Tabla 1: Propiedades de unión de los TGN1412 y TGN112 con receptores Fc gamma humanos.

FCyR	TGN1112	TGN1412
CD16b	+	-
CD32	-	-
CD64	++	+

Leyenda:
 - no detectable
 + unión media
 ++ unión fuerte

25 Tabla 1: La unión de los TGN1412 y TGN112 con el FcγRIIIb (CD16b) se midió mediante un ELISA (= ensayo de inmunosorbente ligado a enzimas), sirviendo una CD16b recombinante humana (de R&D Systems) como "antígeno de captura" (en inglés "capture antigen"). La interacción entre la CD16b y el TGN1112 se detectó mediante una cadena ligera del anticuerpo Ig kappa antihumana conjugada con peroxidasa de rábano picante (HRP). Para la detección de la unión de TGN112 o respectivamente TGN1412 con las CD32 y CD64, unos linajes de células negativas con respecto a la CD28, que expresan de manera constitutiva la CD32 y/o la CD64, se incubaron con el TGN1112 o TGN1412 durante 40 minutos, se lavaron y se contratificaron con el anticuerpo IgG antihumano conjugado con PE (peroxidasa), que reconoce a la cadena kappa. Las células se lavaron y la unión de TGN1112 y TGN1412 con FcγR se detectó mediante una citometría de flujo pasante. La especificidad para la CD64 se determinó en el caso de unos linajes de células, que expresan tanto la CD32 como también la CD64, mediante unos experimentos de competición con el anticuerpo anti-CD64 bloqueador.

Ejemplo 2: Estimulación de las células T por medio de los anticuerpos conformes al invento

40 Seguidamente se ilustran unos hallazgos experimentales, que muestran que, de manera sorprendente, tanto el TGN1112 como también el TGN1412 están en situación, sin ninguna reticulación transversal artificial, de activar ex vivo a los linfocitos T humanos. A causa del hecho de que el TGN1412 sólo se une débilmente con el receptor Fc CD64, esto no se podía esperar en particular para el TGN1412.

45 Se investigó primeramente si las propiedades activadoras de las células T de los anticuerpos humanizados permanecieron conservadas frente al anticuerpo de partida 5.11A1. El sorprendente resultado se ha representado ejemplificativamente en la Fig. 10. En la Fig. 10A se muestra que tanto el TGN1112 como también el TGN1412 en una forma soluble están en situación de estimular eficazmente para la proliferación en una suspensión celular a las células mononucleares procedentes de sangre periférica (PBMC). En la Fig. 10B se muestra, que la inducción de la proliferación de las células T por el TGN1412 se efectúa de un modo similarmente fuerte que la inducción de la proliferación por el anticuerpo de partida 5.11A1, pero que sin embargo, unos anticuerpos anti-CD28 convencionales, es decir no superagonistas, tales como, por ejemplo, los anticuerpos 28.2 o 152-2E10, no están en situación de hacer esto.

Ejemplo 3: Relevancia del dominio Fc para las propiedades estimuladoras

A continuación se investigó si el dominio Fc es necesario para las propiedades estimuladoras frente a las células T humanas en un cultivo de PBMC. Para esto, se produjeron unos fragmentos F(ab)₂ del TGN1112 y éstos se compararon en un cultivo de células con un anticuerpo intacto en lo que respecta a la activación de las PMBC. El resultado se ha representado en la Fig. 11. Se muestra que los fragmentos F(ab)₂ del TGN1112 no inducían ninguna proliferación, mientras que el anticuerpo intacto provocaba de una manera dependiente de la dosis una fuerte proliferación de las PMBC.

Ejemplo 4: Las células T son las células diana de la actividad estimuladora de los anticuerpos conformes al invento

Con el fin de mostrar que, en el caso de las células que proliferan debido a la estimulación por el TGN1412 en el cultivo de PBMC, se trata de unas células T, el análisis del marcador del ciclo celular Ki-67 se vinculó con el análisis de los marcadores superficiales CD4 y CD8. La expresión de CD4 o respectivamente CD8 caracteriza a los dos grupos principales de células T, las células T ayudadoras (que expresan la CD4) o respectivamente las células T citotóxicas (que expresan la CD8). En la Fig. 12 A se muestra que el TGN1412 soluble estimula manifiestamente la proliferación de los dos subconjuntos en una suspensión de PBMC. En la Fig. 12B se muestra que también unos linfocitos T CD4 o respectivamente CD8 purificados son estimulados manifiestamente para la proliferación mediante una estimulación con TGN1412, pero no obstante, en este sistema no es necesaria la presencia de un agente de reticulación transversal.

En la Fig. 13 se muestra que mediante la expansión, mediada por el TGN1412, de las células T CD4 en un cultivo de células permanece conservado el repertorio de la expresión de TCRVB. Esto constituye un hallazgo importante en el sentido de que en la inmunoterapia pretendida es provechoso conservar la diversidad, que se presenta en la naturaleza del repertorio de TCR, con el fin de obtener una inmunotolerancia y garantizar la reactividad frente a un amplio espectro de posibles agentes patógenos.

Resumiendo, estos resultados muestran sorprendentemente que tanto el TGN1412 como también el TGN111 en una forma disuelta están en situación de estimular a las células T humanas en un cultivo de células.

Ejemplo 5: Elevado efecto estimulador junto con un pequeño efecto pro-apoptótico de los anticuerpos conformes al invento

A continuación, se investigó más detalladamente la activación de las células T, que había sido mediada por los TGN1412, TGN1112 y el anticuerpo de partida 5.11A1, en lo que respecta a la inducción de la muerte celular programada (apoptosis). En las Figs. 14 y 15 se han recopilado los resultados representativos.

En la Fig. 14 se representa que la proporción de las células T apoptóticas en un cultivo de PBMC, que eran estimuladas con los anticuerpos anti-CD28 5.11A1, TGN1412 y TGN1112 en una forma soluble, estaba pronunciada con la mayor frecuencia en el caso de los cultivos estimulados con el 5.11A1, de una manera intermedia en el caso de los cultivos estimulados con el TGN1112 y de manera mínima en el caso de los cultivos estimulados con el TGN1412. En consonancia con estos resultados, la Fig. 15 muestra que la expresión del receptor CD95, que provoca la apoptosis en unas células T, que habían sido estimuladas con el 5.11A1, era la más frecuente, mientras que las células estimuladas con TGN1112 manifestaron una frecuencia intermedia y las células estimuladas con TGN1412 manifestaron una frecuencia pequeña de las células positivas para la CD95.

Bibliografía

Delgado y colaboradores, 1996. J. Drug Target. 3: 321-340

Evans y colaboradores, Nature Immunol., 2005, 6: 271-279

Ewert y colaboradores, 2004. Methods, 34: 184-199

Hwang y colaboradores, Methods, 2005, 36: 3-10

Isaacs y colaboradores, Clin. Exp. Immunol., 106: 427-433

Johnson, G. y Wu, T. T. 2000, Nucleic Acids Research

Jones y colaboradores 1986. Nature 321: 522-525

Kabat, E. A. y colaboradores 1991; Sequences of Proteins of Immunological Interest [Secuencias de proteínas de interés inmunológico], Quinta edición. NIH Publication No. 91-3242

Lin y colaboradores, Eur. J. Immunol., 2003, 33:626-638

Luhder y colaboradores, J. Exp. Med., 2003, 197: 955-966

Norderhaug y colaboradores, 1997. J. Immunol. Methods, 204: 77-87

Schmidt y colaboradores, J. Neuroimmunol., 2003, 140: 143-152

Schwarz, Nature Immunol., 2005, 6: 327-330

Tacke y colaboradores, Eur. J. Immunol., 1997, 27:239-247

Umana y colaboradores, 1999, Nature Biotech. 17: 176-180

Woof y colaboradores, Nature Reviews Immunol., 2004, 1-11

LISTA DE SECUENCIAS

- 5 <110> TeGenero AG
 <120> Anticuerpos anti-CD28 superagonistas
 <130> L 1701 PCT
 <160> 48
- 10 <170> PatentIn versión 3.1
 <210> 1
 <211> 33
 <212> ADN
 15 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> CDR
- 20 <400> 1
 tcacactacg gcctcgactg gaacttcgat gtc 33
 <210> 2
 <211> 11
 25 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> CDR
 30 <400> 2
 Ser His Tyr Gly Leu Asp Trp Asn Phe Asp Val
 1 5 10
 <210> 3
 <211> 51
 <212> ADN
 35 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> CDR
- 40 <400> 3
 tgtatttatc ctggaaatgt caatactaac tataatgaga agtcaagga c 51

ES 2 437 571 T3

<210> 4
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> CDR
 <400> 4
 10
 Cys Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

 Asp

 <210> 5
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 15

 <220>
 <223> CDR
 20
 <400> 5
 ggatacacct tcaccagcta ctatatacac 30

 <210> 6
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 25

 <220>
 <223> CDR
 30
 <400> 6

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

 <210> 7
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 35

 <220>
 <223> CDR
 40
 <400> 7
 caacagggtc aaacttatcc gtacacg 27

 <210> 8
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 45

 <220>
 <223> CDR
 50
 <400> 8

 Gln Gln Gly Gln Thr Tyr Pro Tyr Thr
 1 5 10
 55

ES 2 437 571 T3

<210> 9
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> CDR
 <400> 9
 aaggcttcca acctgcacac a 21
 10
 <210> 10
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> CDR
 <400> 10
 Lys Ala Ser Asn Leu His Thr
 1 5
 20
 <210> 11
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> CDR
 <400> 11
 catgccagtc aaaacattta tgtttgggta aac 33
 30
 <210> 12
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 35
 <220>
 <223> CDR
 40
 <400> 12
 His Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Val Trp Leu Asn
 1 5 10
 <210> 13
 <211> 2178
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 45
 <220>
 <223> HC (acrónimo de "heavy chain" = cadena pesada)
 50

ES 2 437 571 T3

<400> 13

caggtgcagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctggggcctc	agtgaaggtc	60
tctgcaagg	cttctggata	cacottcacc	agctáctata	tácaactgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gattggatgt	atttatcctg	gaaatgtcaa	tactaactat	180
aatgagaagt	tcaaggacag	ggccaccctg	accgtagaca	cgtccatcag	cacagcctac	240
atggagctga	gcaggctgag	atctgacgac	acggccgtgt	attctgtac	aagatcacac	300

ES 2 437 571 T3

tacggcctcg actggaactt ogatgtctgg ggccaagggg ccacggtcac cgtctcctca 360
 ggtgagtcgt acgctagcaa gctttctggg gcaggccggg cctgactttg gctgggggca 420
 gggagggggc taaggtgacg caggtggcgc cagccaggtg cacaccaat gccatgagc 480
 ccagacactg gacctgcat ggaccatcgc ggatagacaa gaaccgaggg gcctctgccc 540
 cctgggcccga gctctgtccc acaaccgggt cacatggcac cacctctctt gcagcttcca 600
 ccaagggccc atccgtcttc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc gagagcacag 660
 ccgcccctggg ctgcccggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg tcgtggaact 720
 caggcgccct gaccagcggc gtgcacaact tcccggctgt cctacagtcc tcaggactct 780
 actcctcag cagcgtgggt accgtgccc ccagcagctt gggcacgaag acctacacct 840
 gcaacgtaga tcacaagccc agcaaaccca aggtggacaa gagagttggt gagaggccag 900
 cacagggagg gaggggtgtc gctggaagcc aggtcagcc ctctgccc gacgcacccc 960
 ggctgtgacg cccagcccc gggcagcaag gcatgcccc totgtctct caccggagg 1020
 cctctgacca cccactcat gctcagggag agggctctct ggattttct accaggctcc 1080
 gggcagccac aggtggatg cccctacccc aggcctgcg catacagggg caggtgctgc 1140
 gctcagacct gccaaagacc atatccggga ggacctgcc cctgacctaa gccacccc 1200
 aaggccaaac tctccactcc ctccagctcag acacctctc tctcccaga tctgagtaac 1260
 tcccaatctt ctctctgacg agtccaaata tggccccca tgcccatcat gccaggtaa 1320
 gccaacccag gcctgcccct ccagctcaag gggggacagg tgcccctagag tagcctgcat 1380
 ccagggacag gccccagccc ggtgtgacg cctccacctc catctctcc tcagcacctg 1440
 agttcctggg gggaccatca gtcttctgt tcccccaaa acccaaggac actctcatga 1500
 tctcccggac cctgaggtc acgtgogtg tggtgacgt gagccaggaa gaccccagg 1560
 tccagttcaa ctggtacgt gatggcgtg aggtgcataa tgccaagaca aagcccggg 1620
 aggagcagtt caacagcag tacctgttg tcagcgtct caccgtctg caccaggact 1680
 ggctgaacgg caaggagtac aagtgcaag tctccaaca aggcctccc tctccatog 1740
 agaaaacat ctccaaagc aaaggtgga cccacgggt gcgagggcca catggacaga 1800
 ggtcagctcg gcccaacctc tgcccggga gtgaccgtg tgccaacctc tgtccotaca 1860
 gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag 1920
 aaccaggtca gcctgacctg cctggcaca ggtctctacc ccagcgacat cgcctggag 1980
 tgggagagca atgggacgc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 2040
 gacggctcct tcttctctc cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg gcaggaggg 2100
 aatgtctct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc 2160
 ctctccctgt ctctgggt 2178

ES 2 437 571 T3

<210> 14
 <211> 446
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

5

<220>
 <223> HC

<400> 14

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

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

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

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

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

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

Thr Arg Ser His Tyr Gly Leu Asp Trp Asn Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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

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

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

10

ES 2 437 571 T3

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

ES 2 437 571 T3

<210> 15
 <211> 1007
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial

5

<220>
 <223> LC (acrónimo de "Light chain" = cadena ligera)

<400> 15

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgcc atgccagtca aaacatttat gtttggttaa actggtatca gcagaaacca      120
gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcttccaacc tgcacacagg ggtcccatca      180
aggttcagtg gcagtggtc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct      240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag ggtcaaactt atccgtacac gttcggcgga      300
gggaccaagg tggagatcaa acgtgagtcg tacgctagca agcttgatat cgaattctaa      360
actctgaggg ggtcggatga cgtggcatt ctttgcctaa agcattgagt ttactgcaag      420
gtcagaaaag catgcaaagc cctcagaatg gctgcaaaga gctccaacaa aacaatttag      480
aactttatta aggaataggg ggaagctagg aagaactca aaacatcaag attttaaata      540
cgcttcttgg tctccttgot ataattatct gggataagca tgetgttttc tgtctgtccc      600
taacatgccc tgtgattatc cgcaacaac acaccaagg gcagaacttt gttacttaaa      660
caccatcctg tttgcttctt tctcaggaa ctgtggctgc accatctgtc ttcactctcc      720
cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact      780
tctatcccag agaggcoaaa gtacagtggg aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact      840
cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcacc      900
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa gtcaccatc      960
agggcctgag ctgcgccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt      1007
    
```

10

ES 2 437 571 T3

<210> 16
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

5

<220>
 <223> LC

<400> 16

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 His Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Val Trp
 20 25 30

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

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

10

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

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

Thr Phe Gly Gly 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

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> 17
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> CDR
 <400> 17
 10 tcacactacg gcctcgactg gaactcgat gtc 33
 <210> 18
 <211> 11
 <212> PRT
 15 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> CDR
 20 <400> 18
 Ser His Tyr Gly Leu Asp Trp Asn Phe Asp Val
 <210> 19
 <211> 51
 <212> ADN
 25 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> CDR
 30 <400> 19
 tgtattatc ctggaatgt caatactaac tataatgaga agtcaagga c 51
 <210> 20
 <211> 17
 35 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> CDR
 40 <400> 20
 Cys Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Asp
 <210> 21
 <211> 30
 45 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> CDR
 50 <400> 21
 ggatacacct tcaccagcta ctatatacac 30
 <210> 22
 <211> 10
 <212> PRT
 55 <213> secuencia artificial

ES 2 437 571 T3

```

<220>
<223> CDR

<400> 22
                    Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Ile His
5                    1          5          10
<210> 23
<211> 27
<212> ADN
<213> secuencia artificial

10
<220>
<223> CDR

<400> 23
15 caacagggtc aaacttatcc gtacacg          27

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
20 <213> secuencia artificial

<220>
<223> CDR

25 <400> 24
                    Gln Gln Gly Gln Thr Tyr Pro Tyr Thr
                    1          5

<210> 25
<211> 21
30 <212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> CDR

35 <400> 25
aaggcttcca acctgcacac a          21

<210> 26
<211> 7
40 <212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
45 <223> CDR

<400> 26
                    Lys Ala Ser Asn Leu His Thr
                    1          5

50 <210> 27
<211> 33
<212> ADN
<213> secuencia artificial

55 <220>
<223> CDR

<400> 27
catgccagtc aaaacattta tgtttgggta aac          33

```

ES 2 437 571 T3

<210> 28
 <211> 11
 <212> PRT
 5 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> CDR

10 <400> 28

His Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Val Trp Leu Asn
 1 5 10

<210> 29
 <211> 2184
 <212> ADN
 15 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> HC

20 <400> 29

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcacc agctactata tacactgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gattggatgt atttatcctg gaaatgtcaa tactaactat 180
 aatgagaagt tcaaggacag ggccaccctg accgtagaca cgtccatcag cacagcctac 240
 atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt atttctgtac aagatcacac 300
 tacggcctcg actggaactt cgatgtctgg ggccaagga ccaaggctac cgtctcctca 360
 ggtgagtcgt acgctagcaa gotttctggg gcaggccagg cctgacctg gctttggggc 420
 agggaggggg ctaaggtagc gcagggtggc ccagccaggt gcacaacca tgcccatgag 480
 cccagacact ggacgctgaa cctcgcggac agttaagaac ccagggcct ctgcgccctg 540
 ggcccagctc tgtcccacac cgoggtcaca tggcaccacc tctcttgag cctccaccaa 600
 gggcccatcg gtcttcccc tggcaccctc ctccaagagc acctctgggg gcacagcggc 660
 cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccgggt acggtgtcgt ggaactcagg 720
 cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta cagtctcag gactctactc 780
 cctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag cagcttgggc acccagacct acatctgcaa 840
 cgtgaatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaaa gttggtgaga ggccagcaca 900
 gggagggagg gtgtctgctg gaagccaggc tcagcgtcc tgccctggacg catcccggtc 960
 atgcagcccc agtccagggc agcaaggcag gccccgtctg cctcttcacc cggaggcctc 1020
 tgcccgcctc actcatgctc agggagaggg tcttctggct ttttcccagg ctctgggcag 1080
 gcacaggcta ggtgccctca acccaggccc tgcaacacaaa ggggcagggt ctgggctcag 1140
 acctgccaa agccatatcc gggaggaccc tgcccctgac ctaagccac cccaaaggcc 1200
 aaactotcca ctccctcagc toggacaact tctctcctcc cagattccag taactcccaa 1260
 tcttctctct gcagagccca aatcttgtga caaaactcac acatgccac cgtgccagc 1320
 taagccagcc caggcctcgc cctccagctc aaggcgggac aggtgcctca gagtagcctg 1380

ES 2 437 571 T3

catccagga caggccccag ccgggtgctg acacgtccac ctccatctct tcctcagcac 1440
 ctgaactoct ggggggaccg tcagttttcc ttttcccccc aaaacccaag gacaccctca 1500
 tgatctcccg gacccttgag gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg 1560
 aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc 1620
 gggaggagca gtacaacagc acgtaccggg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg 1680
 actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caagccctc ccagccccca 1740
 tcgagaaaac catctccaaa gccaaaggtg ggaccogtgg ggtgcgaggg ccacatggac 1800
 agaggccggc tcggcccacc ctctgccttg agagtgaccg ctgtaccaac ctctgtccct 1860
 acagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccgga tgagctgacc 1920
 aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atccagcga catcgccgtg 1980
 gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 2040
 tccgacggt ctttttct ctacagcaag ctaccogtgg acaagagcag gtggcagcag 2100
 gggaaogtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctgac acaaccacta cacgcagaag 2160
 agcctctccc tgtctccggg taaa 2184

<210> 30
 <211> 450
 <212> PRT
 5 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> HC

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

ES 2 437 571 T3

cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcaccc 900
 tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgogaa gtcacccatc 960
 agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt 1007

<210> 32
 <211> 214
 <212> PRT
 5 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> LC

10 <400> 32

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

ES 2 437 571 T3

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> 33
 <211> 360
 <212> ADN
 5 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> VHC

10 <400> 33
 cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcoctc agtgaaggtc 60
 tcoctgcaagg cttctggata caccttcacc agctactata tacactgggt ggcacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gattggatgt atttatcctg gaaatgtcaa tactaactat 180
 aatgagaagt tcaaggacag ggccaccctg accgtagaca cgtccatcag cacagcctac 240
 atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt atttctgtac aagatcacac 300
 tacggcctcg actggaactt cgatgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 360

<210> 34
 <211> 120
 <212> PRT
 15 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> VHC

20 <400> 34
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Cys Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95

ES 2 437 571 T3

Thr Arg Ser His Tyr Gly Leu Asp Trp Asn Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 35
 <211> 321
 <212> ADN
 5 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> VLC

10 <400> 35
 gacatccaga tgaccaggc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc atgccagtca aaacatttat gtttggttaa actggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcttccaacc tgcaacacagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag ggtcaaactt atccgtacac gttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 36
 <211> 107
 15 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> VLC

20 <400> 36
 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 His Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Val Trp
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Thr Tyr Pro Tyr
 85 90 95

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

5 <210> 37
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial

10 <220>
 <223> VHC

<400> 37
 cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcttgcaagg cttctggata caccttcacc agctactata tacactgggt ggcacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gattggatgt atttatcctg gaaatgtcaa tactaactat 180
 aatgagaagt tcaaggacag gcccacctg accgtagaca cgtecatcag cacagcctac 240
 atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggcctgt attctgtac aagatcacac 300
 tacggcctcg actggaactt cgatgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 360

15 <210> 38
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

20 <220>
 <223> VHC

<400> 38
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Cys Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Thr Arg Ser His Tyr Gly Leu Asp Trp Asn Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

ES 2 437 571 T3

<210> 39
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial

5

<220>
 <223> VLC

<400> 39
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttggc atgccagtca aacatttat gtttggttaa actggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gttccaacc tgcacacagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggtac tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag ggtcaaactt atccgtacac gttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

10

<210> 40
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

15

<220>
 <223> VLC

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

20

ES 2 437 571 T3

<210> 41
 <211> 2551
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial

5

<220>
 <223> HC

<400> 41

```

    ggtaccgggc cgacctcacc atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag      60
    ctacaggtaa ggggctcaca gtagcaggct tgaggctctg acatatatat gggtgacaat      120
    gacatccact ttgcctttct ctccacaggt gtgcattccc aggtgcagct ggtgcagtct      180
    ggggctgagg tgaagaagcc tggggcctca gtgaaggtct cctgcaagcc ttctggatac      240
    accttcacca gctactatat acaactgggtg cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg      300
    attggatgta tttatcctgg aaatgtcaat actaactata atgagaagtt caaggacagg      360
    gccacctga ccgtagaac acgcatcagc acagcctaca tggagctgag caggctgaga      420
    tetgacgaca cggcctgtga tttctgtaca agatcacact acggcctcga ctggaacttc      480
    gatgtctggg gccaaaggac cacggtcacc gtctcctcag gtgagtcgta cgctagcaag      540
    ctttctgggg caggccgggc ctgactttgg ctgggggcag ggagggggct aaggtagcgc      600
    aggtggcgcc agccaggtc acacccaatg cccatgagcc cagacactgg accctgcatg      660
    gaccatcgcg gatagacaag aaccgagggg cctctgcgcc ctgggcccag ctctgtccca      720
    caccgcggtc acatggcacc acctctcttg cagcttcac caagggcca tccgtcttcc      780
    cctggcgccc ctgctocagg agcaoctoog agagcacagc cgcctgggc tgctgggtca      840
    aggactactt cccogaaccg gtgacgggtg cgtggaactc aggcgcctg accagcggcg      900
    tgcacaectt cccggctgtc ctacagctct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga      960
    ccgtgccttc cagcagcttg ggcaogaaga cctacacctg caacgtagat cacaagccca     1020
    gcaacaccaa ggtggacaag agagttggtg agaggccagc acagggaggg aggtgtctg     1080
    ctggaagcca ggctcagccc tctgcctgg agcaccocg gctgtgcagc ccagcccag     1140
    ggcagcaagg catgcccat ctgtctctc acccggaggg ctctgaccac cccactcatg     1200
    ctcagggaga gggctctctg gatttttoca ccaggctccg ggcagocaca ggtggtatgc     1260
    ccctaccoca ggcctgcgc atacaggggc aggtgctgcg ctcagacctg ccaagagcca     1320
    tatccgggag gacctgccc ctgacctaa cccaccccaa aggcctaaact ctccactccc     1380
    tcagctcaga caccttctct cctcccagat ctgagtaact cccaatcttc tctctgcaga     1440
    gtecaaatat ggtcccccac gccatcatg cccaggtaag ccaaccagg cctgcctctc     1500
    cagctcaagg cgggacaggt gccctagagt agcctgcatc cagggacagg cccagccgg     1560
    gtgctgacgc atccacctcc atctcttctc cagcacctga gttcctgggg ggaccatcag     1620
    
```

10

ES 2 437 571 T3

tcttcctggt ccccccaaaa cccaaggaca ctctcatgat ctcccggacc cctgaggtca 1680
 cgtgcgtggt ggtggacgtg agccaggaag accccgaggt ccagttcaac tggtagctgg 1740
 atggcgtgga ggtgcataat gccaaagaca agccgcggga ggagcagttc aacagcacgt 1800
 accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaacggc aaggagtaca 1860
 agtgcaaggt ctccaacaaa ggctcccgt cctccatcga gaaaaccatc tccaagcca 1920
 aagggtggac ccacgggggtg cgagggccac atggacagag gtcagctcgg cccaccctct 1980
 gccctgggag tgaccgctgt gccaacctct gtcctacag ggcagccccg agagccacag 2040
 gtgtacacc tgccccatc ccaggaggag atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc 2100
 ctggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg 2160
 gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg ctggactcgg acggtcctt ctctctctac 2220
 agcaggctaa cgtggacaa gagcaggtgg caggagggga atgtcttctc atgctccgtg 2280
 atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca cagaagagcc tctccctgtc tctgggtaaa 2340
 tgagtgccag ggccggcaag cccccgctcc ccgggctctc ggggtcgcgc gaggatgctt 2400
 ggcacgtacc cgtctacat acttcccagg caccagcat gaaataaag caccaccac 2460
 tgccctgggc cctgtgaga ctgtgatgt tctttccacg ggtcaggccg agtotgaggc 2520
 ctgagtgaca tgagggaggc agagcggatc c 2551

<210> 42
 <211> 466
 <212> PRT
 5 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> HC

10 <400> 42
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45
 Thr Ser Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Ile Gly Cys Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Asn Tyr Asn
 65 70 75 80
 Glu Lys Phe Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser

ES 2 437 571 T3

	340		345		350														
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr				
		355					360					365							
Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu				
	370					375					380								
Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp				
	385				390					395					400				
Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val				
				405					410					415					
Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp				
			420					425					430						
Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His				
		435					440					445							
Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu				
	450					455					460								

Gly Lys
465

- <210> 43
- <211> 1721
- <212> ADN
- 5 <213> secuencia artificial

- <220>
- <223> LC

10 <400> 43

```

ggtaccggggc cgacctcacc atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag      60
ctacaggtaa  ggggctcaca gtagcaggct tgaggctctgg acatatatat gggtgacaat      120
gacatccact ttgcctttct ctccacaggt gtgcattccg acatocagat gaccagttct      180
ccatcctccc tgtctgcate tgtaggagac agagtcacca tcacttgcca tgccagtcaa      240
aacatttatg tttggttaaa ctggtatcag cagaaaccag ggaaagcccc taagctctg      300
atctataagg cttccaacct gcacacaggg gtcccatcaa ggttcagtgg cagtggatct      360
gggacagatt tcactctcac catcagcagt ctgcaacctg aagattttgc aacttactac      420
tgtcaacagg gtcaaaacta tccgtacacg ttcggcggag ggaccaaggt ggagatcaaa      480
cgtgagtcgt acgetagcaa gcttgatctc gaattctaaa ctctgagggg gtcggatgac      540
gtggccattc tttgctctaa gcattgagtt tactgcaagg tcagaaaagc atgcaaagcc      600

```

ES 2 437 571 T3

ctcagaatgg ctgcaaagag ctccaacaaa acaatttaga actttattaa ggaatagggg 660
 gaagctagga agaaactcaa aacatcaaga ttttaaatac gcttcttggg ctccttgcta 720
 taattatctg ggataagcat gctgttttct gtctgtccct aacatgccct gtgattatcc 780
 gcaaacaaca cacccaaggg cagaactttg ttacttaaac accatcctgt ttgcttcttt 840
 cctcaggaac tgtggctgca ccatctgtct tcatcttccc gccatctgat gagcagttga 900
 aatctggaac tgctctgtt gtgtgcoctgc tgaataactt ctatcccaga gaggccaaag 960
 tacagtggaa ggtggataac gccctocaat cgggtaactc ccaggagagt gtcacagagc 1020
 aggacagcaa ggacagcacc tacagcctca gcagcaccct gacgctgagc aaagcagact 1080
 acgagaaaaca caaagtctac gcctgogaag tcaacctca gggcoctgagc tcgcccgtca 1140
 caaagagctt caacagggga gagtgttaga gggagaagtg cccccacctg ctctcagtt 1200
 ccagcctgac cccctccat cctttggcct ctgaccctt ttccacaggg gacctacccc 1260
 tattgcggtc ctccagctca tctttcaact cccccctc ctctccttg gctttaatta 1320
 tgctaagtgt ggaggagaat gaataaataa agtgaatctt tgcacctgtg gttctctct 1380
 ttctcattt aataattatt atctgttgtt ttaccaacta ctcaatttct cttataaggg 1440
 actaaatag tagtcatcct aaggcgcata accatttata aaaatcatcc ttcattctat 1500
 tttaccctat catcctctgc aagacagtcc tccctcaaac ccacaagcct tctgtcctca 1560
 cagtcccctg ggccatggta ggagagactt gcttccctgt tttcccctcc tcagcaagcc 1620
 ctcatagtcc tttttaaggg tgacaggtct tacagtcata tatccttga ttcaattccc 1680
 tgagaatcaa ccaaagcaaa ttctgcagc ccgggggatc c 1721

<210> 44
 <211> 233
 <212> PRT
 5 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> LC

10 <400> 44

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

ES 2 437 571 T3

Leu Leu Ile Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg
65 70 75 80

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
85 90 95

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Thr
100 105 110

Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
115 120 125

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
130 135 140

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
145 150 155 160

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
165 170 175

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
180 185 190

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
195 200 205

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
210 215 220

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 45
<211> 2553
<212> ADN
5 <213> secuencia artificial

<220>
<223> HC

10 <400> 45
ggtaccgggc cgacctcacc atgggatgga gctgtatcat cctottottg gtagcaacag 60
ctacaggtaa ggggctcaca gtagcaggct tgaggtctgg acatataat gggtgacaat 120
gacatccact ttgcctttct ctccacaggt gtgcattccc aggtgcagct ggtgcagtct 180
ggggctgagg tgaagaagcc tggggcctca gtgaaggtct cctgcaaggc ttctggatac 240
accttcacca gctactatat aactgggtg cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg 300

ES 2 437 571 T3

attgatgta tttatcctgg aaatgtcaat actaactata atgagaagtt caaggacagg 360
 gccaccctga ccgtagacac gtccatcagc acagcctaca tggagctgag caggctgaga 420
 tctgacgaca cggccgtgta tttctgtaca agatcacact acggcctoga ctggaacttc 480
 gatgtctggg gccaaaggac cacggtcacc gtctcctcag gtgagtogta cgctagcaag 540
 ctttctgggg caggccagge ctgaccttg ctttggggca gggagggggc taaggtgagg 600
 caggtggcgc cagccaggtg cacaccaat gccatgagc ccagacactg gacgctgaac 660
 ctgcgggaca gttaagaacc caggggctc tgcgccttg gccagctct gtcccacacc 720
 gcggtcacat ggcaccacct ctcttgagc ctccaccaag ggcccatcgg tcttccccct 780
 ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tggccaagga 840
 ctacttcccc gaaccggtga cgggtgcgtg gaactcagge gccctgacca gcggcgtgca 900
 caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc ctgagcagcg tggtgaccgt 960
 gccctcagc agcttgggca ccagacctc catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa 1020
 caccaaggtg gacaagaaag ttggtgagag gccagcacag ggagggaggg tgtctgctgg 1080
 aagccaggct cagcgtcct gctggagc atcccggcta tgcagcccca gtccagggca 1140
 gcaaggcagg ccccgctctgc ctcttcccc ggaggcctct gcccgcccca ctcatgctca 1200
 gggagagggg cttctggctt tttcccagge tctgggcagg cacaggctag gtgcccctaa 1260
 ccagggcct gcacacaaag gggcaggtgc tgggctcaga cctgccaaga gccatatccg 1320
 ggaggacct gccctgacc taagcccacc coaaaggcca aactctccac tccctcagct 1380
 cggacacct ctctcctccc agattccagt aactcccaat cttctctctg cagagcccaa 1440
 atcttgtgac aaaactcaca catgcccacc gtgcccaggt aagccagccc aggcctcgcc 1500
 ctccagctca aggcgggaca ggtgcctag agtagcctgc atccagggac aggcccagc 1560
 cgggtgctga cacgtccacc tccatctctt cctcagcacc tgaactcctg gggggaccgt 1620
 cagtcttct ctcccccca aaacccaagg acacctcat gatctccgg acccctgagg 1680
 tcacatgct ggtggtggac gtgagccacg aagacctga ggtcaagttc aactggtacg 1740
 tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca 1800
 cgtaccgggt ggtcagcgtc ctccacctc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt 1860
 acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc atctccaaag 1920
 ccaaaggctg gaccctggtg gtgcgagggc cacatggaca gaggccggt cgccccacc 1980
 tctgcccctga gagtgaccgc tgtaccaacc tctgtcccta cagggcagcc ccgagaacca 2040
 caggtgtaca cctgcccc atcccgggat gagctgacca agaaccaggt cagcctgacc 2100
 tgccctgtca aaggttctc tcccagcagc atgcctgtg agtgggagag caatgggcag 2160
 ccggagaaca actacaagac cagcctccc gtgctggact ccgacggctc cttcttctc 2220

ES 2 437 571 T3

tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc 2280
 gtgatgcatg aggctctgca caaccactac acgcagaaga gectctccct gtctccgggt 2340
 aatgagtgc gacggccggc aagccccgc tcccggggt ctcggggtcg cagcaggatg 2400
 cttggcacgt accccctgta catacttccc gggcgcccag catggaaata aagcaccocag 2460
 cgctgccttg ggccccgag agactgtgat ggttctttcc acgggtcagg ccgagtctga 2520
 ggccctgagtg gcatgaggga ggcagagcgg gtc 2553

<210> 46
 <211> 469
 <212> PRT
 5 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> HC

10 <400> 46
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45
 Thr Ser Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Ile Gly Cys Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Asn Tyr Asn
 65 70 75 80
 Glu Lys Phe Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser
 85 90 95
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Phe Cys Thr Arg Ser His Tyr Gly Leu Asp Trp Asn Phe Asp Val
 115 120 125
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
 130 135 140
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
 145 150 155 160
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val

ES 2 437 571 T3

420

425

430

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
435 440 445

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
450 455 460

Leu Ser Pro Gly Lys
465

<210> 47

<211> 1721

<212> ADN

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> LC

10 <400> 47

```

ggtaccgggc cgacctcacc atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag      60
ctacaggtaa ggggctcaca gtagcaggct tgaggctctgg acatatatat gggtgacaat      120
gacatccoact ttgcctttct ctccacaggt gtgcattccg acatccagat gaccagctct      180
ccatcctccc tgtctgcatc tgtaggagac agagtcacca tcacttgcca tgccagtcaa      240
aacatztatg tttggttaaa ctggtatcag cagaaaccag ggaaagcccc taagctcctg      300
atctataagg cttccaacct gcacacaggg gtcccatcaa ggttcagtgg cagtggatct      360
gggacagatt tcactctcac catcagcagt ctgcaacctg aagattttgc aacttactac      420
tgtcaacagg gtcaaactta tccgtacacg ttcgggggag ggaccaaggt ggagatcaaaa      480
cgtgagtcgt acgctagcaa gcttgatata gaattctaaa ctctgagggg gtcggatgac      540
gtggocattc tttgcctaaa gcattgagtt tactgcaagg tcagaaaagc atgcaaagcc      600
ctcagaatgg ctgcaaagag ctccaacaaa acaatttaga actttattaa ggaatagggg      660
gaagctagga agaaactcaa aacatcaaga ttttaataac gcttcttggt ctctctgcta      720
taattatctg ggataagcat gctgttttct gtctgtccct aacatgccct gtgattatcc      780
gcaaacaaca cacccaaggg cagaactttg ttaacttaac accatctctg ttgcttcttt      840
cctcaggaac tgtggctgca ccactctgtc tcactttccc gccatctgat gagcagttga      900
aatctggaac tgccctctgtt gtgtgcctgc tgaataactt ctatcccaga gaggccaaag      960
tacagtggaa ggtggataac gccctccaat cgggtaactc ccaggagagt gtcacagagc     1020
aggacagcaa ggacagcacc tacagcctca gcagcacctc gacgctgagc aaagcagact     1080
acgagaaaca caaagtctac gcctgogaag tcacccatca gggcctgagc tcgcccgctca     1140
caaagagctt caacagggga gagtgttaga gggagaagtg cccccacctg ctctctcagtt     1200
    
```

ES 2 437 571 T3

ccagcctgac cccctcccat cctttggcct ctgacccttt ttccacaggg gacctacccc 1260
tattgcggtc ctccagctca tctttcacct cacccccctc ctctccttg gctttaatta 1320
tgctaagtgt ggaggagaat gaataaataa agtgaatctt tgcacctgtg gtttctctct 1380
ttctcattt aataattatt atctgttgtt ttaccaacta ctcaatttct cttataaggg 1440
actaaatag tagtcactct aaggcgcata accatttata aaaatcatcc ttcattctat 1500
ttaccctat catcctctgc aagacagtcc tccctcaaac ccacaagcct tctgtcctca 1560
cagtcccctg ggccatggta ggagagactt gcttccttgt tttcccctcc tcagcaagcc 1620
ctcatagtcc tttttaaggg tgacaggtct tacagtcata tatcctttga ttcaattccc 1680
tgagaatcaa ccaaagcaaa ttctgcagc ccgggggatc c . 1721

<210> 48

<211> 233

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> LC

10 <400> 48

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

ES 2 437 571 T3

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
145 150 155 160

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
165 170 175

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
180 185 190

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
195 200 205

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
210 215 220

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

REIVINDICACIONES

1. Ácido nucleico, que codifica una molécula de unión, que se une específicamente a una molécula CD28 humana, que comprende
- 5 a) una secuencia de ácido nucleico que codifica una región V_H y una secuencia de ácido nucleico que codifica una región V_L, que comprenden unas CDRs en un armazón de inmunoglobulina humana, realizándose que
- 10 i) la secuencia de ácido nucleico de la región V_H comprende la SEQ ID No.: 33 y/o codifica un (poli)péptido, que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID No.: 34; y
- ii) la secuencia de ácido nucleico de la región V_L comprende la SEQ ID No.: 35 y/o codifica un (poli)péptido, que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID No.: 36
- y
- 15 b) una secuencia de ácido nucleico que codifica la región constante de un anticuerpo IgG1 o IgG4 humano.
2. Ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende una secuencia de ácido nucleico, realizándose que la secuencia de ácido nucleico
- 20 i) es la SEQ ID No.: 13, 29, 41 o 45; y/o
- ii) codifica un (poli)péptido con la secuencia de aminoácidos SEQ ID No.: 14, 30, 42 o 46.
3. Ácido nucleico de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 o 2, que comprende una secuencia de ácido nucleico, realizándose que la secuencia de ácido nucleico
- 25 i) es la SEQ ID No.: 15 o 43; y/o
- ii) codifica un (poli)péptido con la secuencia de aminoácidos SEQ ID No.: 16 o 44.
4. Ácido nucleico de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 3, que comprende además de ello una secuencia de ácido nucleico que codifica un elemento marcador o una marca (Tag).
- 30 5. Vector, que comprende el ácido nucleico de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 4, o un anfitrión no humano, transformado o transfectado con un tal vector.
- 35 6. Procedimiento para la producción de una molécula de unión, que es codificada por un ácido nucleico de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 4, que comprende la cultivación del anfitrión no humano de acuerdo con la reivindicación 5 en unas condiciones adecuadas, y el aislamiento de la molécula de unión a partir del cultivo.
- 40 7. Molécula de unión, codificada por un ácido nucleico de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 4; o producida con el procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6.
8. Anticuerpo o fragmento o derivado de un anticuerpo, que comprende por lo menos una molécula de unión de acuerdo con la reivindicación 7, siendo el anticuerpo de manera preferida un anticuerpo monoclonal.
- 45 9. Composición, que comprende el ácido nucleico de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 4, el vector de acuerdo con la reivindicación 5, el anfitrión de acuerdo con la reivindicación 5, la molécula de unión de acuerdo con la reivindicación 7, y/o el anticuerpo o fragmento o derivado de un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 8.
- 50 10. Composición de acuerdo con la reivindicación 9, que es una composición farmacéutica y eventualmente, además de ello, contiene un vehículo farmacéuticamente compatible, un excipiente farmacéuticamente compatible o un diluyente farmacéuticamente compatible, o que es una composición de diagnóstico, o que es un estuche, que comprende el ácido nucleico, el vector, el anfitrión, la molécula de unión, y/o el anticuerpo o un fragmento o derivado de un anticuerpo, en uno o varios recipientes.
- 55 11. Ácido nucleico de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 4, vector de acuerdo con la reivindicación 5, anfitrión de acuerdo con la reivindicación 5, molécula de unión de acuerdo con la reivindicación 7, y/o anticuerpo o fragmento o derivado de un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 8 para la utilización como un medicamento.
- 60 12. Utilización del ácido nucleico de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 4, del vector de acuerdo con la reivindicación 5, del anfitrión de acuerdo con la reivindicación 5, de la molécula de unión de acuerdo con la reivindicación 7, y/o del anticuerpo o fragmento o derivado de un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 8 para la producción de una composición de diagnóstico para el análisis in-vitro de la capacidad de respuesta de un paciente a una terapia con una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 10.

ES 2 437 571 T3

Secuencia de ADN de la HC de TGN1412 inclusive los intrones, las UTRs y un péptido director

```

1  ggtaccgggc  egacctcacc  atgggatgga  gctgtatcat  cctcttcttg  gtagcaacag
61  ctacaggtaa  ggggctcaca  gtagcaggct  tgaggctctg  acatatatat  gggtgacaat
121  gacatccact  ttgcctttct  ctccacagg  gtgcattccc  aggtgcagct  ggtgcagtct
181  ggggctgagg  tgaagaagcc  tggggcctca  gtgaaggctc  cctgcaagge  ttctggatac
241  accttcacca  gctactatat  acactgggtg  cgacaggccc  ctggacaagg  gcttgagtgg
301  attggatgta  tttatcctgg  aaatgtcaat  actaactata  atgagaagtt  caaggacagg
361  gccaccctga  ccgtagacac  gtccatcagc  acagcctaca  tggagctgag  caggctgaga
421  tctgacgaca  cggccgtgta  tttctgtaca  agatcacact  acggcctcga  ctggaacttc
481  gatgtctggg  gccaaaggac  cacggtcacc  gtctctcag  gtgagtcgta  cgtagcaag
541  ctttctgggg  caggccgggc  ctgactttgg  ctgggggag  ggagggggct  aagggtgacgc
601  aggtggcgcc  agccagggtg  acaccaatg  cccatgagcc  cagacactgg  accctgcatg
661  gaccatcgcg  gatagacaag  aaccgagggg  cctctgcgcc  ctgggcccag  ctctgtccca
721  caccgcggtc  acatggcacc  acctctcttg  cagcttccac  caagggccca  tccgtcttcc
781  cectggcgcc  ctgctccagg  agcacctcgg  agagcacagc  cgcctggggc  tgctgggtca
841  aggactactt  cccgaaccgg  gtgacgggtg  cgtggaactc  aggcgccttg  accagcggcg
901  tgcacacctt  cccggctgtc  ctacagctct  caggactt  ctccctcagc  agcgtgggtg
961  ccgtgccttc  cagcagcttg  ggcacgaaga  cctacacctg  caacgtagat  cacaagccca
1021  gcaacaccaa  ggtggacaag  agagtgggtg  agaggccagc  acagggaggg  aggggtgtctg
1081  ctggaagcca  ggctcagccc  tctgctctgg  acgcaccccg  gctgtgcagc  cccagcccag
1141  ggcagcaagg  catgcccctt  ctgtctcttc  acccggaggc  ctctgaccac  cccactcatg
1201  ctgagggaga  gggctctctg  gatttttcca  ccaggctccg  ggcagccaca  ggtggatgc
1261  cctaccacca  ggccctgcgc  atacaggggc  aggtgctgcg  ctgagacctg  ccaagagcca
1321  tctccgggag  gaccctgccc  ctgacctaag  cccaccccaa  aggccaaact  ctccactccc
1381  tcagctcaga  caccttctct  cctcccagat  ctgagtaact  cccaatcttc  tctctgcaga
1441  gtccaaatat  ggtcccctat  gccatcatg  cccaggtaag  ccaaccagg  cctcgccttc
1501  cagctcaagg  cgggacagg  gccctagagt  agcctgcatc  cagggacagg  cccagccgg
1561  gtgctgacgc  atccacctcc  atctctctct  cagcacctga  gttcctgggg  ggaccatcag
1621  tcttctgtt  cccccaaaa  cccaaggaca  ctctcatgat  ctcccggacc  cctgagggtca
1681  cgtgctggtt  ggtggacgtg  agccaggaag  accccgaggt  ccagttcaac  tggtagctgg
1741  atggcgtgga  ggtgcataat  gccaaagaca  agccgcggga  ggagcagttc  aacagcacgt
1801  accgtgtggt  cagcgtcctc  accgtcctg  accaggactg  gctgaacggc  aaggagtaca
1861  agtgcagggt  ctccaacaaa  ggctcccgt  cctccatcga  gaaaaccatc  tccaagcca
1921  aagggtgggac  ccaagggggtg  cgaggggcac  atggacagag  gtcagctcgg  cccaccctct
1981  gccctgggag  tgaccgctgt  gccaccctct  gtccctacag  ggcagccccg  agagccacag
2041  gtgtacacc  tgccccctc  ccaggaggag  atgaccaaga  accaggtcag  cctgacctgc
2101  ctgggtcaaag  gcttctacct  cagcgacatc  gccgtggagt  gggagagcaa  tgggcagccg
2161  gagaacaact  acaagaccac  gctctccgtg  ctggactcgg  acggctcctt  ctctctctac
2221  agcaggctaa  ccgtggacaa  gagcaggtgg  caggagggga  atgtctcttc  atgctcctg
2281  atgcatgagg  ctctgcacaa  ccactacaca  cagaagagcc  tctccctgtc  tctgggtaaa
2341  tgagtgcag  ggccggcaag  cccccctcc  ccgggtcttc  ggggtcgcgc  gaggatgctt
2401  ggcacgtaac  ccgtctacat  acttcccagg  caccagcat  ggaaataaag  caccaccac
2461  tgccctgggc  cctgtgaga  ctgtgatggt  tctttccag  ggtcaggccg  agtctgaggc
2521  ctgaatgaca  tgaaggagac  agaggagatc  c

```

- 5 Pos. 21 atg: 1^{er} codón director Pos. 157 tcc: último codón director (director con intrón!)
- Pos. 160 cag: 1^{er} codón de la VHR Pos. 517 tca: último codón de la VHR
- 10 Pos. 2338 aaa : último codón de IgG4 cons.
- Pos. 2341 tga: STOP

15 **FIGURA 1**

Fig. 2: Secuencia de aminoácidos de la HC de TGN1412 inclusive un péptido director

MGWSCIIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYIHWRQAPGQ
 CDR-H1

GLEWIGCIYFGNVNTNYNEKFKDRATLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYFCTRSHYGLDW
 CDR-H2 CDR-H3

NEDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
 CDR-H3

SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSC

PAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP

REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPP

SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDK

RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

Variantes observadas junto al extremo terminal de C en el caso de la expresión en células CHO

5 (...) SLGK ó (...) SLG

Péptido director

MGWSCIIILFLVATATGVHS

Secuencia de ADN de la LC de TGN1412 inclusive los intrones, las UTRs y un péptido director

```

1  ggtaccgggc  cgacctcacc  atgggatgga  gctgtatcat  cctcttcttg  gtagcaacag
61  ctacaggtaa  ggggctcaca  gtagcaggct  tgaggctctg  acatatatat  gggtgacaat
121  gacatccact  ttgcctttct  ctccacaggt  gtgcattccg  acatccagat  gaccaggtct
181  ccctcctccc  tgtctgcctc  tgtaggagac  agagtcacca  tcacttgcca  tgccagtcaa
241  aacatttatg  tttgggtaaa  ctgggtatcag  cagaaaccag  ggaaagcccc  taagctoctg
301  atctataagg  cttccaacct  gcacacaggg  gtcccatcaa  ggttcagtgg  cagtggatct
361  gggacagatt  tcaactctcac  catcagcagt  ctgcaacctg  aagattttgc  aacttactac
421  tgtcaacagg  gtcaaactta  tcogtacacg  ttcggcggag  ggaccaaggt  ggagatcaaa
481  cgtgagtogt  acgctagcaa  gcttgatabc  gaattctaaa  ctctgagggg  gtcggatgac
541  gtggccattc  tttgcctaaa  gcattgagtt  tactgcaagg  tcagaaaagc  atgcaaagcc
601  ctcagaatgg  ctgcaaagag  ctccaacaaa  acaatttaga  actttattaa  ggaatagggg
661  gaagctagga  agaaactcaa  aacatcaaga  ttttaaatac  gcttcttggg  ctcttctgta
721  taattatctg  ggataagcat  gctgttttct  gtctgtcctt  aacatgcctt  gtgattatcc
781  gcaaacaaca  cacccaaggg  cagaactttg  ttacttaaac  accatcctgt  ttgcttcttt
841  cctcaggaac  tgtggctgca  ccatctgtct  tcatcttccc  gccatctgat  gagcagttga
901  aatctggaac  tgcctctgtt  gtgtgcctgc  tgaataactt  ctatcccaga  gaggccaaag
961  tacagtggaa  ggtggataac  gccctccaat  cgggtaactc  ccaggagagt  gtcacagagc
1021  aggacagcaa  ggacagcacc  tacagcctca  gcagcacctt  gacgctgagc  aaagcagact
1081  acgagaaaca  caaagtctac  gcctgogaag  tcacccatca  gggcctgagc  tcgcccgtca
1141  caaagagctt  caacagggga  gagtgttaga  gggagaagtg  cccccacctg  ctctcagttt
1201  ccagcctgac  cccctcccct  cctttggcct  ctgacccttt  ttccacaggg  gacctacccc
1261  tattgctggc  ctccagctca  tctttcacct  cccccctc  ctctccttg  gctttaatta
1321  tgctaattgt  ggaggagaat  gaataaataa  agtgaatctt  tgcacctgtg  gtttctctct
1381  ttctcattt  aataattatt  atctgttgtt  ttaccaacta  ctcaatttct  cttataaggg
1441  actaaatatg  tagtcatcct  aaggcgcata  accatttata  aaaatcatcc  ttcatctat
1501  tttaccctat  catcctctgc  aagacagtc  tcctcaaac  ccacaagcct  tctgtcctca
1561  cagtccccctg  ggccatggta  ggagagaact  gcttcttgt  tttccccctc  tcagcaagcc
1621  ctcatagtcc  tttttaaggg  tgacaggtct  tacagtcata  tatcctttga  ttcaattccc
1681  tgagaatcaa  ccaaagcaaa  ttctctgcagc  ccgggggatc  c

```

Pos. 21 atg: 1^{er} codón director Pos. 157 tcc: último codón director (director con intrón!)

5 Pos. 160 gac: 1.Codón de la VLR Pos. 478 aaa: último codón de la VLR

Pos. 1164 tgt : último codón de kappa const.

Pos. 2341 tag: STOP

10

FIGURA 3

Secuencia de aminoácidos de la LC de TGN1412 inclusive los péptidos directores

MGWSCIILFLVATATGVHSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITCHASQNIYVWLNWYQQKPGKA
PKLLIYKASNLHTGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGQTYPYTFGGGTKVE
IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Péptido director

MGWSCIILFLVATATGVHS

5

FIGURA 4

Secuencia de ADN de la HC de TGN1112 inclusive los intrones, las UTRs y un péptido director

```

1 ggtaccgggc cgacctcacc atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gttagcaacag
61 ctacaggtaa ggggctcaca gtagcaggct tgagggtetgg acatatatat gggtgacaat
121 gacatccact ttgcctttct ctccacagggt gtgcattccc aggtgcagct ggtgcagctct
181 ggggctgagg tgaagaagcc tggggcctca gtgaaggctct cctgcaaggc ttctggatac
241 accttcacca gctactatat acactgggtg cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg
301 attggatgta tttatcctgg aaatgtcaat actaactata atgagaagtt caaggacagg
361 gccaccctga ccgtagacac gtccatcagc acagcctaca tggagctgag caggctgaga
421 tetgacgaca cggccgtgta tttctgtaca agatcacact acggcctcga ctggaacttc
481 gatgtctggg gccaaaggac cacggtcacc gtctcctcag gtgagtcgta cgttagcaag
541 ctttctgggg caggccaggc ctgaccttgg ctttggggca gggagggggc taaggtgagg
601 caggtggcgc cagccagggt cacaccaat gcccatgagc ccagacactg gacgctgaac
661 ctgcgagaca gttaaagaacc caggggcctc tgcgccctgg gccagctctt gtcccacacc
721 gcggtcacat ggcaccacct ctcttgagc ctccaccaag ggcccctcgg tcttccccct
781 ggcacctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tggtaagga
841 ctacttcccc gaaccggtga cgggtgtctg gaactcaggc gccctgacca cggcgtgca
901 caccttcccc gctgtcctac agtctcagc actctactcc ctgagcagcg tggtgaccgt
961 gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa
1021 caccaagggt gacaagaaag ttggtgagag gccagcacag ggagggaggg tgtctgctgg
1081 aagccaggct cagcgtcctt gcctggagcc atcccggcta tgcagcccca gtccagggca
1141 gcaaggcagg ccccgctctgc ctcttcaccc ggaggcctct gcccgcccca ctcatgctca
1201 gggagagggt cttctggcct tttcccaggc tctgggcagg cacaggctag gtgcccctaa
1261 cccaggccct gcacacaaag gggcagggtc tgggctcaga cctgccaaga gccatatccg
1321 ggaggaccct gccctgacc taageccacc ccaaaggcca aactctccac tccctcagct
1381 cggacacctt ctctcctccc agattccagt aactcccaat cttctctctg cagagcccaa
1441 atcttgtgac aaaactcaca catgcccacc gtgcccagggt aagccagccc aggcctcgcc
1501 ctccagctca aggcgggaca ggtgccctag agtagcctgc atccagggac agggcccagc
1561 cgggtgctga cacgtccacc tccatctctt cctcagcacc tgaactcctg gggggaccgt
1621 cagctctctt cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg
1681 tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg
1741 tggacggcgt ggagggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca
1801 cgtaccgggt ggtcagcgtc ctacccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt
1861 acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaag
1921 ccaaaagggtg gaccctgagg gtgcgagggc cacatggaca gaggccggct cggcccacc
1981 tctgccctga gagtgaccgc tgtaccaacc tctgtcctca cagggcagcc ccgagaacca
2041 caggtgtaca ccctgcccc atcccgggat gagctgacca agaaccagggt cagcctgacc
2101 tgcctggcca aaggcttcta tcccagcagc atcgccgtgg agtgggagag caatgggag
2161 ccggagaaca actacaagac cagcctccc gtgctggact ccgacggctc cttctctctc
2221 tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc
2281 gtgatgcatg aggctctgca caaccactac acgcagaaga gcctctcctt gtctccgggt
2341 aaatgagtgac gacggccggc aagccccgc tcccgggct ctgcgggtcg cagcaggatg
2401 cttggcacgt acccctgtg catactccc gggcgcaccag catggaaata aagcaccag
2461 cgtgccctg ggcctctgag agactgtgat ggttcttcc acgggtcagg ccgagtctga
2521 ggctgagtg gcatgagggg gccagagcgg gtc

```

Pos. 21 atg: 1^{er} codón director Pos. 157 tcc: último codón director (director con intrón!)

5

Pos. 160 gac: 1.Codón de la VHR Pos. 517 tca: último codón de la VHR

Pos. 2341 aaa : último codón de IgG1 cons.

10

Pos. 2341 tga: STOP

FIGURA 5

Fig. 6: Secuencia de aminoácidos de la HC de TGN1112 inclusive un péptido director

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYIHWVRQAPGQ
CDR-H1

GLEWIGCIYPGNVNTINYNKFKDRATLTVDTSI STAYMELSRRLSDDTAVYFCTRSHYGLDW
CDR-H2 CDR-3H

NFDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT

SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC

PPCRAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK

TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYI

LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV

DKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

Péptido director

MGWSCIILFLVATATGVHS

Secuencia de ADN de la LC de TGN1112 inclusive los intrones, las UTRs y un péptido director

```

1 ggtaccgggc cgacotcacc atgggatgga gotgtatcat cctcttcttg gttagcaacag
61 ctacaggtaa ggggctcaca gtagcaggct tgagggtctgg acatatabat gggtgacaat
121 gacatccact ttgcctttct ctccacaggt gtgcattccg acatccagat gaccagctct
181 ccatcctccc tgtctgcac tgtaggagac agagtcacca tcacttgcca tggcagtcaa
241 aacatttatg tttggttaaa ctgggtatcag cagaaaccag ggaaagcccc taagctcctg
301 atctataagg ctccaacct gcacacaggg gtcccatcaa ggttcagtgg cagtggatct
361 gggacagatt tcactctcac catcagcagt ctgcaacctg aagattttgc aacttactac
421 tgtcaacagg gtcaaactta tccgtacacg ttccggggag ggaccaaggt ggagatcaa
481 cgtgagtcgt acgctagcaa gcttgatata gaattctaaa ctctgagggg gtccgatgac
541 gtggccattc tttgctaaa gcattgagtt tactgcaagg tcagaaaagc atgcaaagcc
601 ctcagaatgg ctgcaaagag ctccaacaaa acaatttaga actttatata ggaatagggg
661 gaagctagga agaaactcaa aacatcaaga ttttaaatac gcttcttggg ctctctgcta
721 taattatctg ggataagcat gctgttttct gtctgtccct aacatgcctc gtgattatcc
781 gcaaacaaca caccacaggg cagaactttg ttaactaaac accatcctgt ttgcttctt
841 cctcaggaac tgtggctgca ccatctgtct tcactctccc gccatctgat gacagttga
901 aatctggaac tgctctgttt gtgtgcctgc tgaataactt ctatoccaga gaggccaaag
961 tacagtggaa ggtggataac gccctccaat cgggtaactc ccaggagagt gtcacagagc
1021 aggacagcaa ggacagcacc tacagcctca gcagcaccct gacgctgagc aaagcagact
1081 acgagaaaca caaagtctac gcctgcgaag tcaccatca gggcctgagc tcgcccgtca
1141 caaagagctt caacagggga gagtgttaga gggagaagtg cccccacctg ctctcagtt
1201 ccagcctgac cccctcccat cctttggcct ctgacccttt ttccacaggg gacctacccc
1261 tattgcggtc ctccagctca tctttcact cccccctc ctctccttg gctttaatta
1321 tgctaattgt ggaggagaat gaataataa agtgaatctt tgcacctgtg gttctctct
1381 ttctcattt aataattatt atctgttgtt ttacnaacta ctcaattctt ctataaggg
1441 actaaatatg tagtcatctt aaggcgcata accatttata aaaatcatcc ttcattctat
1501 tttaccctat catctctctg aagacagtc tccctcaaac ccacaagcct tctgtcctca
1561 cagtccctg ggccatggta ggagagactt gcttcttgt tttcccctcc tcagcaagcc
1621 ctcatagtcc tttttaaggg tgacaggtct tacagtcata tatctttga ttcaattccc
1681 tgagaatcaa ccaaagcaaa ttctctgcagc cggggggatc c

```

Pos. 21 atg: 1^{er} codón director Pos. 157 tcc: último codón director (director con intrón!)

5

Pos. 160 gac: 1^{er} codón de la VLR Pos. 478 aaa: último codón de la VLR

Pos. 1164 tgt : último codón de kappa cons.

10

Pos. 2341 tga: STOP

FIGURA 7

Secuencia de aminoácidos de la LC de TGN1112 inclusive los péptidos directores

MGWSCIIILFLVATATGVHSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNIYVWLNWYQOKPGKA
PKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGQTPYPTFGGGTKVE
IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

- 5 **Péptido director**
MGWSCIIILFLVATATGVHS

FIGURA 8

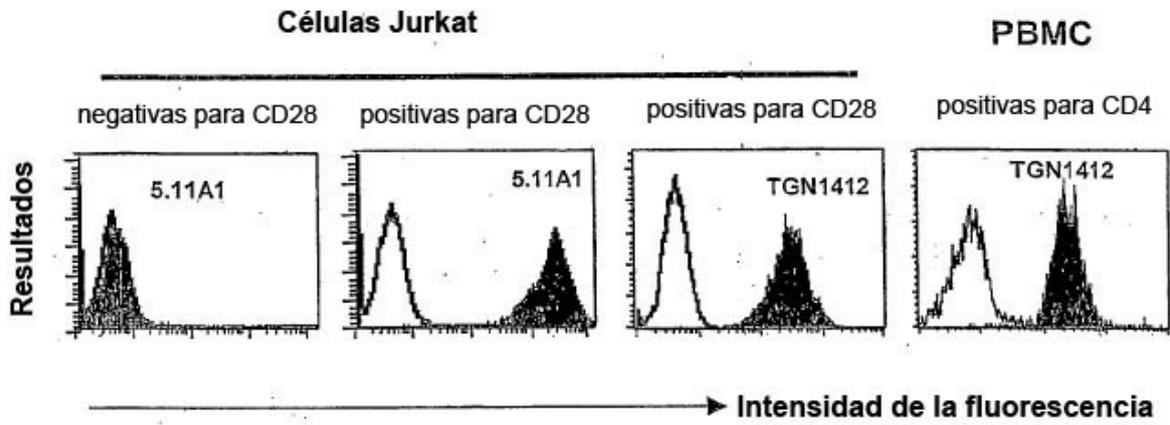


FIGURA 9

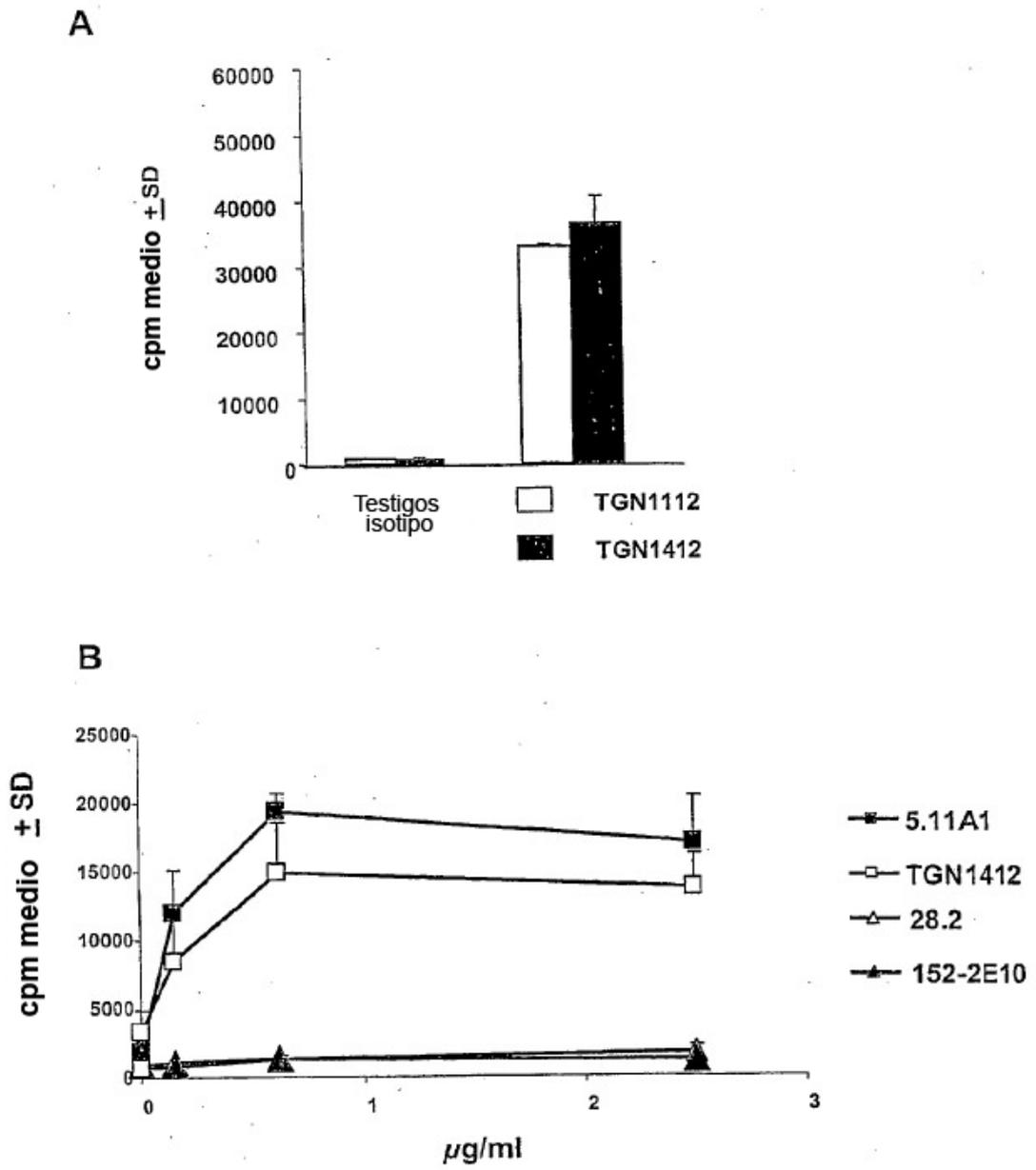


FIGURA 10

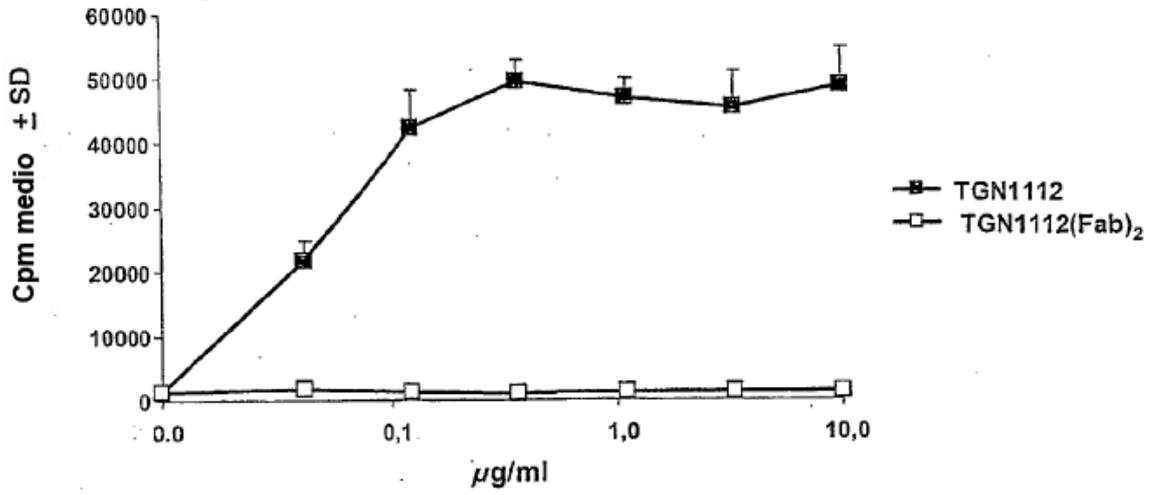


FIGURA 11

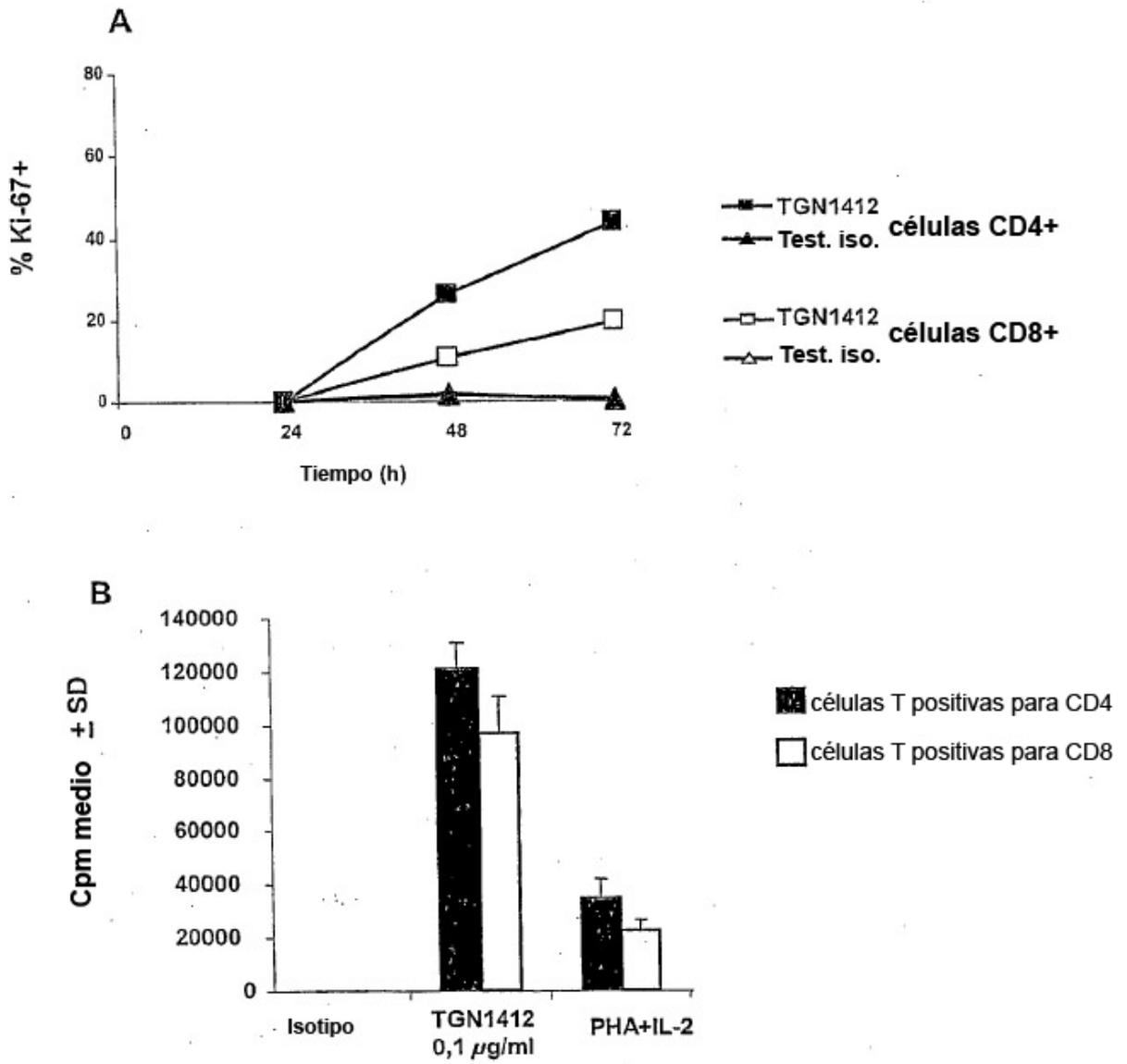


FIGURA 12

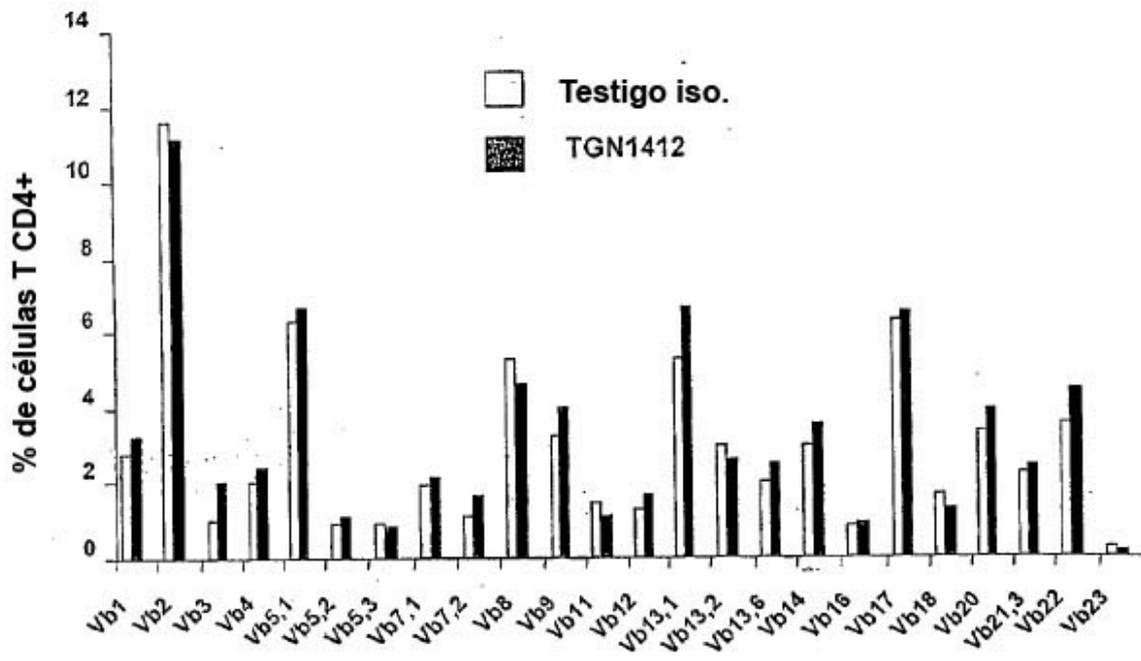


Figura 13

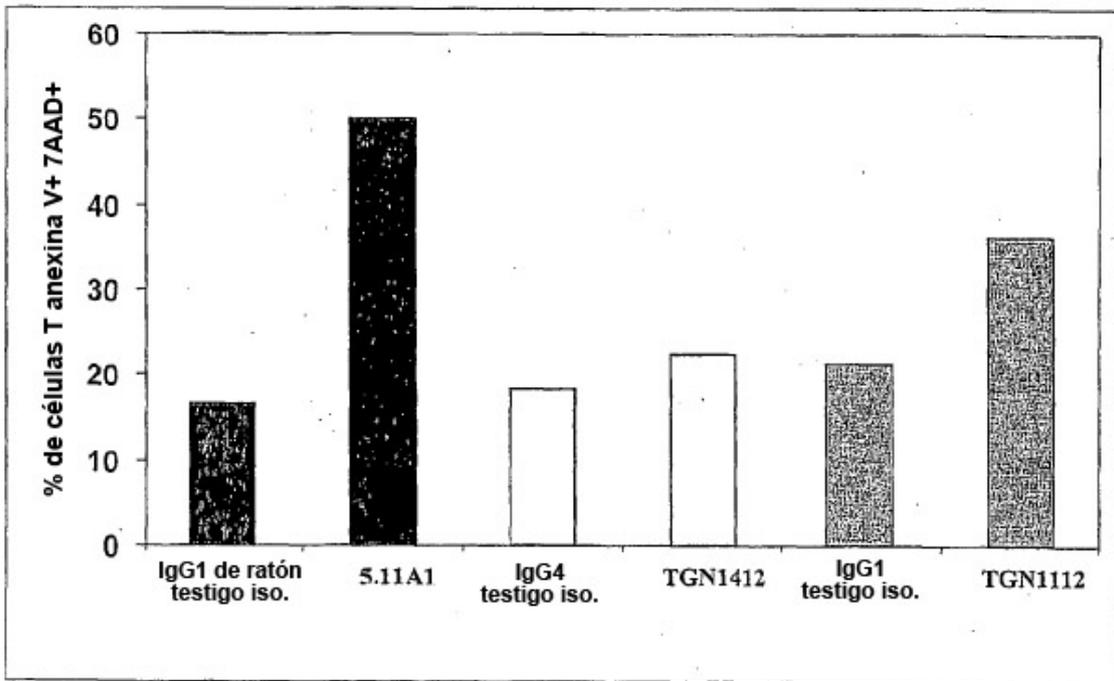


FIGURA 14

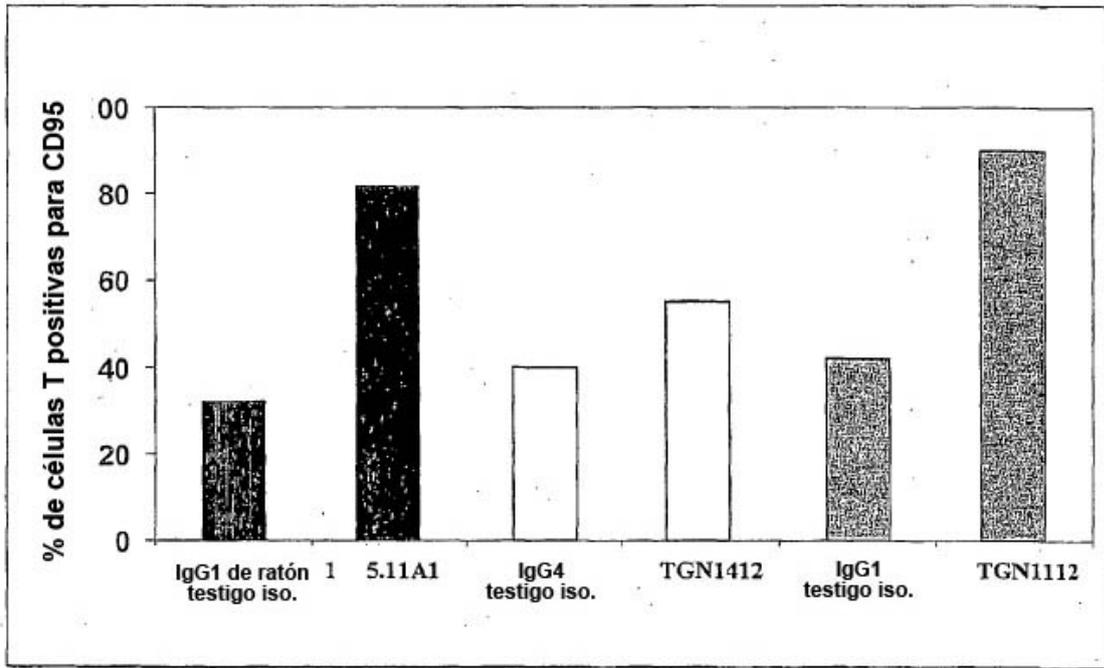


FIGURA 15

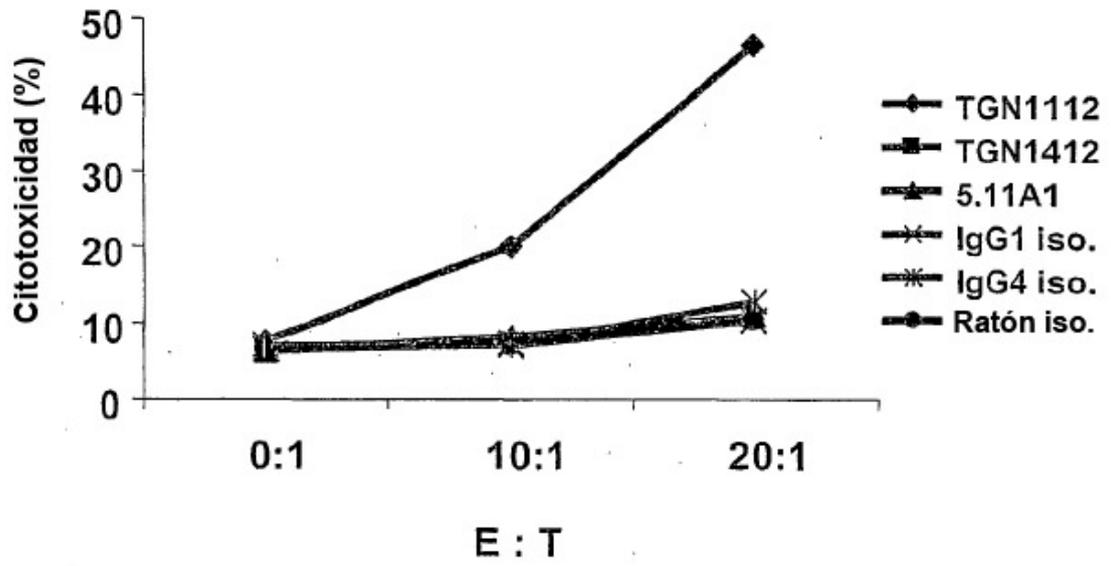


FIGURA 16

VRLC de TGN1113/TGN1412

5	Definición de CDR según	Combinación de ABM y Kabat	Kabat
	CDR-L1	HASQNTYVWLN	HASQNTYVWLN
10	CDR-L2	KASNLHT	KASNLHT
	CDR-L3	QQGQTYPYT	QQGQTYPYT

15 **Para la VRLC se han definido de igual manera las CDRs según los dos sistemas**

20 **VRHC de TGN1113/TGN1412**

25	Definición de CDR según	Combinación de ABM y Kabat	Kabat
	CDR-H1	GYTFTHYYIN	HYYIN
30	CDR-H2	CTYPGNVNTNYNEKFKD	CTYPGNVNTNYNEKFKD
	CDR-H3	SHYGLDWNFDV	SHYGLDWNFDV

35

FIGURA 17