

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 564 252**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/18** (2006.01)

**G01N 33/577** (2006.01)

**A61K 39/395** (2006.01)

**A61P 25/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.08.2011 E 11745672 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.01.2016 EP 2603523**

54 Título: **Anticuerpos anti-péptido beta-amiloide N3pGlu y usos de los mismos**

30 Prioridad:

**12.08.2010 US 373026 P**

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

**21.03.2016**

73 Titular/es:

**ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)  
Lilly Corporate Center  
Indianapolis, IN 46285, US**

72 Inventor/es:

**LU, JIRONG;  
TANG, YING y  
DEMATTOS, RONALD BRADLEY**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 564 252 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-péptido beta-amiloide N3pGlu y usos de los mismos

La presente invención se refiere a anticuerpos que se unen selectivamente al péptido beta-amiloide N3pGlu y a su uso en el tratamiento de enfermedades relacionadas con el péptido beta-amiloide (A $\beta$ , también denominado Abeta).

5 El péptido A $\beta$  en forma circulante se compone de 38 a 43 aminoácidos (en su mayoría 38, 40 o 42 aminoácidos) que proceden de la escisión de una proteína precursora, la proteína precursora amiloidea (APP). La conversión de A $\beta$  de las formas solubles a las insolubles que tienen un alto contenido de lámina  $\beta$ , y la deposición de estas formas insolubles como placas neuríticas y cerebrovasculares en el cerebro se ha asociado con una serie de afecciones y enfermedades, entre las que se incluyen la enfermedad de Alzheimer (AD), el síndrome de Down y la angiopatía amiloide cerebral (CAA).

10 Los depósitos que se encuentran en las placas se componen principalmente de una mezcla heterogénea de péptidos A $\beta$ . El A $\beta$  N3pGlu, también denominado N3pE o A $\beta_{p3-42}$ , es una forma truncada del péptido A $\beta$  que solo se encuentra en las placas. El A $\beta$  N3pGlu carece de los dos primeros residuos de aminoácidos en el extremo N-terminal de A $\beta$  y tiene un piroglutamato derivado del ácido glutámico en la posición del tercer aminoácido. Aunque el péptido A $\beta$  N3pGlu es un componente menor del A $\beta$  depositado en el cerebro, los estudios han demostrado que el péptido A $\beta$  N3pGlu tiene propiedades de agregación agresiva y se acumula temprano en la cascada de deposición.

15 Aunque ya se han descrito anticuerpos policlonales y monoclonales que se dirigen al péptido A $\beta$  N3pGlu (documentos US 7.122.374, WO2010/009987 y Wirths *et al.* (2009) *Journal of Neural Transmission* 117(1): 85-96), todavía existe la necesidad de una alta afinidad de los anticuerpos monoclonales anti-N3pGlu A $\beta$  para unirse a la diana *in vivo* (es decir, la unión a la placa) y reducir posteriormente los niveles de placa. Además, dado que los anticuerpos anti-A $\beta$  amino-terminales y carboxilo-terminal conducen a un aumento de las microhemorragias relacionadas con la angiopatía amiloide cerebral (CAA), existe la necesidad de anticuerpos anti-N3pGlu A $\beta$  que no den lugar a un aumento de las microhemorragias incluso aunque el tratamiento crónico genere una reducción significativa de la placa depositada.

20 Los anticuerpos dentro del alcance de la presente invención son antagonistas del péptido A $\beta$  N3pGlu terapéuticamente útiles que poseen una serie de propiedades deseables y que se definen en las reivindicaciones.

Los presentes anticuerpos se unen al péptido A $\beta$  N3pGlu humano con alta afinidad y presentan una reducción de la placa dependiente de la dosis *in vivo* sin aumentar las microhemorragias relacionadas con la angiopatía amiloide cerebral (CAA).

30 La presente invención proporciona un anticuerpo anti-N3pGlu A $\beta$  humano diseñado por ingeniería genética o fragmento de unión al antígeno del mismo que tiene una Kd a 25 °C de menos de  $1 \times 10^{-9}$  M para el péptido A $\beta$  N3pGlu humano. En una realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-N3pGlu A $\beta$  humano diseñado por ingeniería genética o fragmento de unión al antígeno del mismo que tiene una Kd a 25 °C de menos de  $9 \times 10^{-10}$  M por el péptido A $\beta$  N3pGlu humano. En otra realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-N3pGlu A $\beta$  humano diseñado por ingeniería genética o fragmento de unión al antígeno del mismo que tiene una Kd a 25 °C de menos de  $7 \times 10^{-10}$  M por el péptido A $\beta$  N3pGlu humano. En otra realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-N3pGlu A $\beta$  humano diseñado por ingeniería genética o fragmento de unión al antígeno del mismo que tiene una Kd a 25 °C de entre  $9 \times 10^{-10}$  M y  $1 \times 10^{-10}$  M por el péptido A $\beta$  N3pGlu humano. En otra realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo que tiene una Kd a 25 °C de entre  $9 \times 10^{-10}$  M y  $1 \times 10^{-10}$  M por el péptido A $\beta$  N3pGlu humano.

35 La presente invención proporciona además un anticuerpo anti-N3pGlu A $\beta$  humano diseñado por ingeniería genética o fragmento de unión al antígeno del mismo que tiene una Kd a 25 °C de menos de  $1 \times 10^{-9}$  M o de menos de  $9 \times 10^{-10}$  M o de menos de  $7 \times 10^{-10}$  M, o de entre  $9 \times 10^{-10}$  M y  $1 \times 10^{-10}$  M por el péptido A $\beta$  N3pGlu humano y reduce la placa *in vivo*. En una realización preferida adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-N3pGlu A $\beta$  humano diseñado por ingeniería genética o fragmento de unión al antígeno del mismo que tiene una Kd a 25 °C de menos de  $1 \times 10^{-9}$  M o de menos de  $9 \times 10^{-10}$  M o de menos de  $7 \times 10^{-10}$  M, o de entre  $9 \times 10^{-10}$  M y  $1 \times 10^{-10}$  M por el péptido A $\beta$  N3pGlu humano y reduce la placa *in vivo* sin aumentar las microhemorragias relacionadas con la CAA.

40 La presente divulgación también proporciona un anticuerpo anti-N3pGlu A $\beta$  humano diseñado por ingeniería genética o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una LCVR y una HCVR en la que LCDR1 es KSX<sub>1</sub>X<sub>2</sub>SLLYSRX<sub>3</sub>KTYLN (SEC ID N° 51), LCDR2 es AVSKLX<sub>4</sub>S (SEC ID N° 52), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEC ID N° 5) y HCDR1 es GYX<sub>5</sub>FTX<sub>6</sub>YYIN (SEC ID N° 53), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEC ID N° 8) y HCDR3 es EGX<sub>7</sub>TVY (SEC ID N° 54), en las que X<sub>1</sub> es S o T; X<sub>2</sub> es Q o R, X<sub>3</sub> es G o S, X<sub>4</sub> es D o G, X<sub>5</sub> es D o T, X<sub>6</sub> es R o D, y X<sub>7</sub> es I, T, E o V.

55 De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un anticuerpo anti-N3pGlu A $\beta$  humano diseñado por ingeniería genética o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) y una región variable de cadena pesada (HCVR), en el que dicha LCVR comprende los

polipéptidos LCDR1, LCDR2, LCDR3, y HCVR comprende los polipéptidos HCDR1, HCDR2, HCDR3 que se seleccionan entre:

- 5 a) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEC ID N° 3), LCDR2 es AVSKLDS (SEC ID N° 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEC ID N° 5), HCDR1 es GYDFTRYIN (SEC ID N° 6), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEC ID N° 8) y HCDR3 es EGITVY (SEC ID N° 9);
- b) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEC ID N° 3), LCDR2 es AVSKLDS (SEC ID N° 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEC ID N° 5), HCDR1 es GYTFTRYIN (SEC ID N° 7), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEC ID N° 8) y HCDR3 es EGTTVY (SEC ID N° 10);
- 10 c) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEC ID N° 3), LCDR2 es AVSKLDS (SEC ID N° 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEC ID N° 5), HCDR1 es GYTFTDYIN (SEC ID N° 40), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEC ID N° 8) y HCDR3 es EGETVY (SEC ID N° 41);
- d) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEC ID N° 3), LCDR2 es AVSKLGS (SEC ID N° 35), LCDR3 es VQGTHYPFT 5 (SEC ID N° 5), HCDR1 es GYTFTRYIN (SEC ID N° 7), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEC ID N° 8) y HCDR3 es EGTTVY (SEC ID N° 10); y
- 15 e) LCDR1 es KSTRSLLYSRKTYLN (SEC ID N° 45), LCDR2 es AVSKLDS (SEC ID N° 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEC ID N° 5), HCDR1 es GYTFTDYIN (SEC ID N° 40), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEC ID N° 8), y HCDR3 es EGVTVY (SEC ID N° 46).

De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, se proporciona un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) y una región variable de cadena pesada (HCVR), en el que dichas LCVR y HCVR son polipéptidos seleccionados entre:

- 20 a) LCVR de SEC ID N° 11 y HCVR de SEC ID N° 12;
- b) LCVR de SEC ID N° 11 y HCVR de SEC ID N° 13;
- c) LCVR de SEC ID N° 11 y HCVR de SEC ID N° 42; y
- 25 d) LCVR de SEC ID N° 47 y HCVR de SEC ID N° 48.

Preferentemente, el anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención comprende una cadena ligera (LC) y una cadena pesada (HC), en el que los polipéptidos LC y HC se seleccionan entre:

- 30 a) LC de SEC ID N° 14 y HC de SEC ID N° 15;
- b) LC de SEC ID N° 14 y HC de SEC ID N° 16;
- c) LC de SEC ID N° 14 y HC de SEC ID N° 44; y
- d) LC de SEC ID N° 49 y HC de SEC ID N° 50.

Más preferentemente, el anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas en el que cada cadena ligera y cada cadena pesada son polipéptidos seleccionados entre:

- 35 a) LC de SEC ID N° 14 y HC de SEC ID N° 15;
- b) LC de SEC ID N° 14 y HC de SEC ID N° 16;
- c) LC de SEC ID N° 14 y HC de SEC ID N° 44; y
- d) LC de SEC ID N° 49 y HC de SEC ID N° 50.

40 De acuerdo con un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

De acuerdo con un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable para su uso en terapia.

De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento de una afección seleccionada entre la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Alzheimer clínica o preclínica, la enfermedad de Alzheimer prodrómica, el síndrome de Down, o la CAA clínica o preclínica.

De acuerdo con un quinto aspecto de la presente invención, se proporciona un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención para su uso en terapia.

De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención para su uso en el tratamiento de una afección seleccionada entre la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Alzheimer clínica o preclínica, la enfermedad de Alzheimer prodrómica, el síndrome de Down, o la CAA clínica o preclínica.

Se proporciona un anticuerpo anti-N3pGlu A $\beta$  humano diseñado por ingeniería genética o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una LCVR y una HCVR en el que LCDR1 es SEC ID N° 45, LCDR2 es SEC ID N° 4, LCDR3 es SEC ID N° 5, HCDR1 es SEC ID N° 40, HCDR2 es SEC ID N° 8 y HCDR3 es SEC ID N° 46.

5 En otra realización, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-N3pGlu A $\beta$  humano diseñado por ingeniería genética o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) y una región variable de cadena pesada (HCVR), en el que dichas LCVR y HCVR son polipéptidos seleccionados del grupo que consiste en:

- 10 a. LCVR de SEC ID N° 11 y HCVR de SEC ID N° 12;  
 b. LCVR de SEC ID N° 11 y HCVR de SEC ID N° 13;  
 c. LCVR de SEC ID N° 11 y HCVR de SEC ID N° 42;  
 d. LCVR de SEC ID N° 36 y HCVR de SEC ID N° 13; y  
 e. LCVR de SEC ID N° 47 y HCVR de SEC ID N° 48.

15 En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una LCVR de SEC ID N° 11 y una HCVR de SEC ID N° 12. En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una LCVR de SEC ID N° 11 y una HCVR de SEC ID N° 13. En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una LCVR de SEC ID N° 11 y una HCVR de SEC ID N° 42. En una realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una LCVR de SEC ID N° 36 y una HCVR de SEC ID N° 13. En una realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una LCVR de SEC ID N° 47 y una HCVR de SEC ID N° 48.

La presente invención también proporciona un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  que comprende una cadena ligera (LC) y una cadena pesada (HC), en el que los polipéptidos LC y HC se seleccionan del grupo que consiste en:

- 25 a) LC de SEC ID N° 14 y HC de SEC ID N° 15  
 b) LC de SEC ID N° 14 y HC de SEC ID N° 16  
 c) LC de SEC ID N° 14 y HC de SEC ID N° 44;  
 d) LC de SEC ID N° 38 y HC de SEC ID N° 16; y  
 e) LC de SEC ID N° 49 y HC de SEC ID N° 50.

30 En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una LC de SEC ID N° 14 y una HC de SEC ID N° 15. En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una LC de SEC ID N° 14 y una HC de SEC ID N° 16. En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una LC de SEC ID N° 14 y una HC de SEC ID N° 44. En una realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una LC de SEC ID N° 38 y una HC de SEC ID N° 16. En una realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una LC de SEC ID N° 49 y una HC de SEC ID N° 50.

40 En una realización preferida, el anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en el que LC es el polipéptido de SEC ID N° 14 y cada HC es el polipéptido de SEC ID N° 15. En una realización preferida, el anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en el que LC es el polipéptido de SEC ID N° 14 y cada HC es el polipéptido de SEC ID N° 16. En una realización preferida, el anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en el que LC es el polipéptido de SEC ID N° 14 y cada HC es el polipéptido de SEC ID N° 44. En una realización preferida, el anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en el que LC es el polipéptido de SEC ID N° 38 y cada HC es el polipéptido de SEC ID N° 16. En una realización preferida, el anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en el que LC es el polipéptido de SEC ID N° 49 y cada HC es el polipéptido de SEC ID N° 50.

50 La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  de la presente invención o fragmento de unión al antígeno del mismo. En una realización preferida, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  de la presente invención o fragmento de unión al antígeno del mismo y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. En otra realización preferida, la composición farmacéutica comprende además uno o más ingredientes terapéuticos.

55 En un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona un procedimiento de tratamiento de una afección asociada con la actividad del péptido A $\beta$ , que comprende administrar a un paciente humano en necesidad de ello un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno de la presente invención.

En un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona un procedimiento de tratamiento de una afección

seleccionada de un grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer clínica o preclínica, enfermedad de Alzheimer prodrómica, síndrome de Down y CAA clínica o preclínica, que comprende administrar a un ser humano en necesidad de ello un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  de la presente invención o fragmento de unión al antígeno del mismo. En una realización preferida, la presente invención proporciona un procedimiento de tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo de la presente invención para su uso en terapia. En una realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo de la presente invención para su uso en el tratamiento de una afección seleccionada entre enfermedad de Alzheimer clínica o preclínica, enfermedad de Alzheimer prodrómica, síndrome de Down, o CAA clínica o preclínica. En una realización más preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo de la presente invención para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. En otra realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo de la presente invención para su uso en la prevención de una afección seleccionada entre enfermedad de Alzheimer clínica o preclínica, enfermedad de Alzheimer prodrómica y CAA clínica o preclínica. En una realización más preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo de la invención para su uso en la prevención de la enfermedad de Alzheimer.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un uso de un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una afección seleccionada de un grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer clínica o preclínica, enfermedad de Alzheimer prodrómica, síndrome de Down y CAA clínica o preclínica. En una realización preferida, la presente invención proporciona un uso de un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

Un anticuerpo de longitud completa es una molécula de inmunoglobulina que comprende 2 cadenas pesadas (H) y 2 cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro. La parte amino-terminal de cada cadena incluye una región variable de aproximadamente 100 a 110 aminoácidos principalmente responsable del reconocimiento del antígeno a través de la regiones determinantes de la complementariedad (CDR) contenidas en la misma. La parte carboxi-terminal de cada cadena define una región constante principalmente responsable de la función efectora.

Las CDR están intercaladas con regiones que están conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada región variable de la cadena ligera (LCVR) y región variable de la cadena pesada (HCVR) se compone de 3 CDR y 4 FR, dispuestas desde el extremo amino-terminal al extremo carboxi-terminal en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las 3 CDR de la cadena ligera se denominan "LCDR1, Lcdr2 y Lcdr3" y las 3 CDR de la cadena pesada se denominan "Hcdr1, Hcdr2 y Hcdr3". Las CDR contienen la mayor parte de los residuos que forman interacciones específicas con el antígeno. La numeración y la colocación de los residuos de aminoácidos de las CDR dentro de las regiones LCVR y HCVR coinciden con la conocida convención de numeración de Kabat.

Las cadenas ligeras se clasifican como  $\kappa$  o  $\lambda$ , y se caracterizan por una región constante particular, como se conoce en la técnica. Las cadenas pesadas se clasifican como  $\gamma$ ,  $\mu$ ,  $\alpha$ ,  $\delta$  o  $\epsilon$ , y definen el isótopo del anticuerpo como IgG, IgM, IgA, IgD o IgE, respectivamente. Los anticuerpos IgG se pueden dividir además en subclases, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. Cada tipo de cadena pesada se caracteriza por una región constante en particular con una secuencia bien conocida en la técnica.

Como se usa en el presente documento, la expresión "anticuerpo monoclonal" (Mab) se refiere a un anticuerpo que se deriva o se aísla de una sola copia o clon incluyendo, por ejemplo, cualquier clon eucariota, procariota o de fago, y no el procedimiento mediante el que se produce. Los Mab de la presente invención existen preferentemente en una población homogénea o sustancialmente homogénea. Los Mab completos contienen 2 cadenas pesadas y 2 cadenas ligeras. La expresión "fragmentos de unión al antígeno" incluye, por ejemplo, fragmentos Fab, fragmentos Fab', fragmentos F(ab')<sub>2</sub> y fragmentos Fv de cadena sencilla. Los anticuerpos monoclonales de la presente invención y los fragmentos de unión al antígeno de los mismos se pueden producir, por ejemplo, mediante tecnologías recombinantes, tecnologías de visualización en fagos, tecnologías sintéticas, por ejemplo, injerto de CDR, o combinaciones de dichas tecnologías, u otras tecnologías conocidas en la técnica. Por ejemplo, se pueden inmunizar ratones con anticuerpo anti-N3pGlu A $\beta$  humano o fragmentos del mismo, se pueden recuperar los anticuerpos resultantes y purificarse, y se puede determinar si poseen propiedades de unión y funcionales similares o iguales a las de los compuestos de anticuerpos desvelados en el presente documento mediante los procedimientos desvelados esencialmente según lo descrito en los ejemplos que figuran más adelante. Los fragmentos de unión al antígeno también se pueden preparar mediante procedimientos convencionales. Los procedimientos para producir y purificar anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno son bien conocidos en la técnica, y se pueden encontrar, por ejemplo, en Harlow y Lane (1988) "Antibodies, A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, capítulos 5-8 y 15, ISBN 0-87969-314-2.

La expresión "anticuerpos humanos obtenidos por ingeniería genética" se refiere a anticuerpos monoclonales que

5 tienen propiedades de unión y funcionales de acuerdo con la invención y que tienen regiones marco que son sustancialmente humanas o completamente humanas rodeando a las CDR derivadas de un anticuerpo no humano. Los "fragmentos de unión al antígeno" de dichos anticuerpos humanos obtenidos por ingeniería genética incluyen, por ejemplo, fragmentos Fab, fragmentos Fab', fragmentos F(ab')<sub>2</sub> y fragmentos Fv de cadena sencilla. "Región marco" o "secuencia marco" se refiere a una cualquiera de las regiones marco 1 a 4. Los anticuerpos humanos obtenidos por ingeniería genética y fragmentos de unión al antígeno de los mismos abarcados por la presente invención incluyen moléculas en las que una cualquiera o más de las regiones marco 1 a 4 es sustancial o completamente humana, es decir, en la que cualquiera de las posibles combinaciones de las regiones marco individuales sustancial o completamente humanas 1 a 4, está presente. Por ejemplo, esto incluye moléculas en las que la región marco 1 y la región marco 2, la región marco 1 y la región marco 3, la región marco 1, 2 y 3, etc. son sustancial o completamente humanas. Los marcos sustancialmente humanos son aquellos que tienen al menos aproximadamente un 80 % de identidad de secuencia con una secuencia marco de la línea germinal humana conocida. Preferentemente, los marcos sustancialmente humanos tienen al menos aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 % o aproximadamente 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de marco de la línea germinal humana conocida.

Los marcos completamente humanos son aquellos que son idénticos a una secuencia marco de la línea germinal humana conocida. Las secuencias de la línea germinal marco humanas se pueden obtener de ImMunoGeneTics (IMGT) a través de su sitio web <http://imgt.cines.fr> o de "The Immunoglobulin FactsBook" de Marie-Paule Lefranc y Gerard Lefranc, Academic Press, 2001, ISBN 012441351. Por ejemplo, los marcos de la cadena ligera de la línea germinal se pueden seleccionar del grupo que consiste en: All, A17, A18, A19, A20, A27, A30, LI, L11, L12, L2, L5, L15, L6, L8, 012, 02 y 08, y las regiones marco de la cadena pesada de la línea germinal se pueden seleccionar del grupo que consiste en: VH2-5, VH2-26, VH2-70, VH3-20, VH3-72, VHI-46, VH3-9, VH3-66, VH3-74, VH4-31, VHI-18, VHI-69, V1-13-7, VH3-11, VH3-15, VH3-21, VH3-23, VH3-30, VH3-48, VH4-39, VH4-59 y VH5-51.

Los anticuerpos humanos obtenidos por ingeniería genética, además de los desvelados en el presente documento, que presentan propiedades funcionales similares de acuerdo con la presente invención se pueden generar usando varios procedimientos diferentes. Los compuestos de anticuerpos específicos desvelados en el presente documento se pueden usar como moldes o compuestos de anticuerpos parentales para preparar más compuestos de anticuerpos. En una metodología, se injertan las CDR del compuesto del anticuerpo parental en un marco humano que tiene una alta identidad de secuencia con el marco del compuesto del anticuerpo parental. La identidad de secuencia del nuevo marco será generalmente de al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 % o al menos aproximadamente 99 % idéntica a la secuencia del marco correspondiente del compuesto de anticuerpo parental. Este injerto puede generar una reducción en la afinidad de unión en comparación con la del anticuerpo parental. Si este es el caso, el marco puede retromutarse al marco parental en ciertas posiciones basándose en criterios específicos desvelados por Queen *et al.* (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 88:2869. Otras referencias adicionales que describen procedimientos útiles en la humanización de anticuerpos de ratón incluyen las patentes de EE.UU. n.º 4.816.397; 5.225.539 y 5.693.761; los programas informáticos ABMOD y ENCAD como se describe en Levitt (1983) *J. Mol. Biol.* 168:595-620; y el procedimiento de Winter y colaboradores (Jones *et al.* (1986) *Nature* 321:522-525; Riechmann *et al.* (1988) *Nature* 332:323 - 327; y Verhoeyen *et al.* (1988) *Science* 239:1534-1536.

La identificación de los residuos que se han de tener en cuenta para la retromutación se puede llevar a cabo de la siguiente manera.

Cuando un aminoácido pertenece a la siguiente categoría, se reemplaza el aminoácido marco de la secuencia de la línea germinal humana que se está usando (el "marco aceptor") por un aminoácido marco de un marco del compuesto de anticuerpo parental (el "marco donante"):

- (a) el aminoácido de la región marco humana del marco aceptor es poco habitual para los marcos humana en esa posición, mientras que el aminoácido correspondiente de la inmunoglobulina donante es típico para los marcos humana en esa posición;
- (b) la posición del aminoácido es inmediatamente adyacente a una de las CDR; o
- (c) cualquier átomo de la cadena lateral de un aminoácido marco está a aproximadamente 5-6 ángstrom (de centro a centro) de cualquier átomo de un aminoácido de CDR en un modelo de inmunoglobulina tridimensional.

Cuando cada uno de los aminoácidos de la región marco humana del marco aceptor y un aminoácido correspondiente en el marco donante es poco habitual, en general, para los marcos humanos en esa posición, dicho aminoácido se puede reemplazar por un aminoácido típico para los marcos humanos en esa posición. Este criterio de retromutación permite recuperar la actividad del compuesto de anticuerpo parental.

Otra metodología de generación de anticuerpos humanos obtenidos por ingeniería genética que presentan propiedades funcionales similares a las de los compuestos de anticuerpos desvelados en el presente documento implica la mutación aleatoria de aminoácidos dentro de las CDR injertadas sin cambiar el marco, y la exploración de las moléculas resultantes para determinar la afinidad de unión y otras propiedades funcionales que sean tan buenas o mejores que las de los compuestos de anticuerpo parental. También se pueden introducir mutaciones individuales

en cada posición de aminoácido dentro de cada CDR, seguido de la evaluación de los efectos de dichas mutaciones en la afinidad de unión y otras propiedades funcionales. Las mutaciones individuales que producen mejores propiedades se pueden combinar para evaluar sus efectos en combinación entre sí.

5 Además, es posible una combinación de ambas metodologías anteriores. Tras el injerto de CDR, se pueden retromutar regiones marco específicas además de introducir cambios de aminoácidos en las CDR. Esta metodología se describe en Wu *et al.* (1999) *J. Mol. Biol.* 294:151-162.

Aplicando las enseñanzas de la presente invención, el experto en la materia puede usar las técnicas comunes, por ejemplo, mutagénesis dirigida, para sustituir los aminoácidos dentro de las CDR y las secuencias marco desveladas en el presente documento, y generar, de ese modo, secuencias de aminoácidos de la región variable adicionales derivadas de la secuencias presentes. Es posible introducir todos los aminoácidos de origen natural alternativos en un sitio de sustitución específica. Los procedimientos desvelados en el presente documento se pueden usar entonces para explorar estas secuencias de aminoácidos de la región variable adicionales para identificar secuencias que tengan las funciones *in vivo* indicadas. De esta manera, se pueden identificar otras secuencias adecuadas para la preparación de anticuerpos humanos obtenidos por ingeniería genética y las partes de unión al antígeno de los mismos de acuerdo con la presente invención. Preferentemente, la sustitución de aminoácidos dentro de los marcos está restringida a una, dos o tres posiciones dentro de una cualquiera o más de las 4 regiones marco de la cadena ligera y/o la cadena pesada desveladas en el presente documento. Preferentemente, la sustitución de aminoácidos dentro de las CDR está restringida a una, dos o tres posiciones dentro de una cualquiera o más de las 3 CDR de la cadena ligera y/o la cadena pesada. También son posibles las combinaciones de los diversos cambios dentro de estas regiones marco y CDR descritas anteriormente.

El término "tratamiento" (o "tratar") se refiere a procedimientos que implican una ralentización, interrupción, detención, control, parada, reducción o inversión de la progresión o de la gravedad de un síntoma, un trastorno, una afección o una enfermedad existente, pero no implica necesariamente una eliminación total de todos los síntomas, afecciones o trastornos relacionados con la enfermedad asociados con el anticuerpo anti-N3pGlu A $\beta$ .

25 Los anticuerpos de la presente invención se pueden usar como medicamentos en la medicina humana, administrados por una variedad de vías. Más preferentemente, dichas composiciones son para la administración parenteral. Dichas composiciones farmacéuticas se pueden preparar mediante procedimientos bien conocidos en la técnica (Véase, por ejemplo, "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 19<sup>a</sup> ed. (1995), A. Gennaro *et al.*, Mack Publishing Co.) y comprenden un anticuerpo como el desvelado en el presente documento o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Los resultados de los siguientes ensayos demuestran que los anticuerpos monoclonales y los fragmentos de unión al antígeno de los mismos de la presente invención son útiles para el tratamiento de una afección asociada con la actividad del péptido A $\beta$  tal como la enfermedad de Alzheimer, el síndrome de Down y la CAA.

### Ejemplo 1: Producción de anticuerpos

35 Generación inicial de anticuerpos: se inmunizan ratones transgénicos FVB con el péptido  $\beta$ -amiloide 3-42 (N3pGlu) humano truncado en el extremo N-terminal y modificado con piroglutamato tratado previamente a 37 °C durante una noche para formar agregados. Se recogen las células de bazo de los ratones, y se reducen los linfocitos B reactivos con A $\beta$ 1-40 mediante MACS. Las células restantes se clasifican según la unión al péptido A $\beta$  N3pGlu agregado. Se aísla el ARN de los linfocitos B seleccionados y se convierte en ADNc usando oligo dT. Se obtienen las regiones variables de cadena pesada y ligera de los anticuerpos mediante PCR usando cebadores de la secuencia señal de los anticuerpos, y se clonan en el vector de fago mediante mutagénesis de Kunkel para crear la biblioteca de Fab. Se explora la biblioteca de Fab para detectar la unión al péptido N3pGlu agregado mediante ELISA de un solo punto (SPE) y se explora por contraste contra A $\beta$ 1-40. Los clones positivos se caracterizan mediante la secuenciación del ADN, la expresión de Fab y la unión al péptido A $\beta$  N3pGlu, así como la falta de unión al péptido A $\beta$ 1-40 o A $\beta$ 1-42 soluble.

Se construyen bibliotecas de aminoácidos mutantes individuales y se exploran mediante SPE para detectar la unión al péptido A $\beta$  N3pGlu agregado, pero no al A $\beta$ 1-42. Las mutaciones beneficiosas se combinan en bibliotecas combinatorias. Se seleccionan las variantes combinatorias optimizadas por afinidad y se convierten en IgG1 de ratón para la medición de la afinidad por BIAcore<sup>®</sup> y la unión a la placa de A $\beta$  mediante inmunohistoquímica. A partir de un clon identificado, se prepara la proteína mAb en ambos isotipos IgG1 (mE8) e IgG2a (mE8c) de ratón para los estudios de eficacia *in vivo*. mE8 no se une a la secuencia de A $\beta$  N3pGlu de ratón (mpE3-16) ni a A $\beta$ 1-42 humano.

Se usan los marcos de la línea germinal humana VH1-69/JH6 y Vk-A18/JK2 para la humanización inicial. Se injertan las CDR del anticuerpo mE8 (con cuatro mutaciones de afinidad) en los marcos humanos, dando lugar al anticuerpo HE8-C6. Se lleva a cabo una optimización adicional de afinidad en la cadena principal de HE8-C6, y se combinan las mutaciones beneficiosas para crear la variante humanizada, de alta afinidad, R5, R17, R24 y 2420.

Segunda serie de optimización para mejorar la capacidad de desarrollo de fármacos: se seleccionan dos variantes humanizadas, hE8-C6 y R17, como cadena principal para una segunda serie de optimización para mejorar la semivida en suero de los anticuerpos mediante la reducción de la unión inespecífica a las células y para aumentar la

5 afinidad de los anticuerpos por el péptido A $\beta$  N3pGlu soluble. Se sintetiza un péptido soluble biotinilado que consiste en el aminoácido 14 N-terminal de A $\beta$  N3pGlu (pE3-16B), y se evalúa para detectar si es equivalente al péptido A $\beta$  N3pGlu para la unión de los anticuerpos mE8. Se desarrolla un ensayo de desaparición del filtro de alto rendimiento usando pE3-16B y se aplica a toda la exploración de la biblioteca posterior. Todos los éxitos de la exploración de desaparición del filtro se confirman mediante la unión a A $\beta$  N3pGlu agregados.

Se vuelven a explorar las bibliotecas de variantes de HE8-C6 usando el ensayo de desaparición del filtro, y se identifica un conjunto de mutaciones beneficiosas. Se usa un subconjunto de las mismas para crear la biblioteca combinatoria. Mediante dicha metodología, se seleccionan cuatro variantes combinatorias (Coll-E10, Coll-G2, Coll-G8 y Coll-E2).

10 Se emplea la modelización por ordenador para crear modelos estructurales de la región V de hE8-C6, R17, R24 y otras variantes. El análisis del modelo estructural identifica las cargas positivas introducidas para el agrupamiento de la optimización de afinidad en el sitio de unión, una posible causa de unión inespecífica de los anticuerpos a las células. Basándose en la modelización, se seleccionan varias posiciones para introducir cambios con el fin de equilibrar el potencial electrostático de la superficie. Se sintetiza una biblioteca combinatoria mediante la combinación de algunas mutaciones beneficiosas de la exploración de la biblioteca y los cambios definidos por la modelización estructural. Con esta labor, se seleccionan tres variantes (R17m-B4, R17m-A12 y R17m-B12) para estudios posteriores.

20 El análisis de modelo estructural también descubre un choque estérico entre el residuo del marco de cadena ligera Y36 y los residuos de la CDR3 de cadena pesada. Se introduce la mutación Y36L en la cadena ligera de HE8-C6 para producir la variante hE8L. Este cambio del marco individual resulta tener un impacto significativo tanto en el aumento de la afinidad del anticuerpo como en la reducción de la unión inespecífica a las células.

25 El otro esfuerzo consistió en analizar un marco humano diferente para la humanización. Se injertan CDR del anticuerpo mE8 sobre los marcos VH5-51/VKO2 y VH3-23/VKA2. El Fab humanizado con VH5-51/VKO2 (hE8-51O2) se determina como equivalente, si no mejor, a hE8-C6 en la unión a A $\beta$  N3pGlu. La introducción de mutaciones beneficiosas adicionales en hE8-51O2 genera las variantes combinatorias CI-A1, CI-B6, CI-C7 y CI-B8.

Tras pasar todos los ensayos *in vitro*, incluyendo ELISA y Biacore<sup>®</sup> para determinar la especificidad y afinidad por el antígeno, la unión inespecífica a células y la tinción IHC, se seleccionan cinco variante de mAb, B12L, CI-C7, hE8L, R17L y R17.

30 Los anticuerpos se pueden generar y purificar esencialmente de la siguiente manera. Se transfecta una célula huésped apropiada, tal como HEK 293 EBNA o CHO, bien de forma transitoria o estable con un sistema de expresión de la secreción de anticuerpos usando una proporción del vector de HC:LC óptima predeterminada o un solo sistema de vector que codifique tanto HC, tal como SEC ID N° 56 y SEC ID N° 43, como LC, tal como SEC ID N° 55. Se purifica el medio clarificado, en el que se ha secretado el anticuerpo, usando cualquiera de las muchas técnicas comúnmente usadas. Por ejemplo, el medio se puede aplicar convenientemente a una columna de proteína A o G Sepharose FF que se haya equilibrado con un tampón compatible, tal como solución salina tamponada con fosfato (pH 7,4). Se lava la columna para eliminar los componentes de unión inespecífica. El anticuerpo unido se eluye, por ejemplo, mediante un gradiente de pH (por ejemplo, tampón de fosfato de sodio 0,1 M, pH 6,8 a tampón de citrato de sodio 0,1 M, pH 2,5). Las fracciones de anticuerpos se detectan, tal como mediante SDS-PAGE, y luego se combinan. La purificación adicional es opcional, dependiendo del uso previsto. El anticuerpo se puede concentrar y/o filtrar en condiciones estériles usando técnicas comunes. El agregado soluble y los multímeros se pueden eliminar eficazmente mediante técnicas comunes, incluyendo la exclusión por tamaño, la interacción hidrófoba, el intercambio iónico o la cromatografía de hidroxipatita. La pureza del anticuerpo tras estas etapas de cromatografía es superior al 99 %. El producto se puede congelar de inmediato a -70 °C o se puede liofilizar. A continuación, se proporcionan las secuencias de los aminoácidos para estos anticuerpos de la presente invención.

45

**Tabla 1-SEC ID N° de los anticuerpos**

Anticuerpo	Cadena ligera	Cadena pesada	LCVR	HCVR
I (B12L)	14	15	11	12
II (R17L)	14	16	11	13
III (hE8L)	14	44	11	42
IV (R17)	38	16	36	13
V (CI-C7)	49	50	47	48
VI (mE8)	22	23	20	21
VII (mE8c)	22	24		

**Ejemplo 2: Afinidad de unión a N3pGlu soluble**

Se usa la resonancia de plasmón superficial medida con el instrumento Biacore<sup>®</sup> 2000 para medir la unión de A $\beta$  N3pGlu a los anticuerpos contra N3pGlu. Salvo que se indique otra cosa, todos los reactivos y materiales son de Biacore<sup>®</sup> AB (Upsala, Suecia). Todas las mediciones se realizan a 25 °C. Las muestras se disuelven en tampón de



HBS-EP (cloruro de sodio 150 mM, EDTA 3 mM, tensioactivo P-20 al 0,005 % (p/v) y HEPES 10 mM, pH 7,4).

Se sintetiza una serie de péptidos Abeta con los cambios de posición (mutantes de glicina) para evaluar el impacto de un residuo dado en la unión de los anticuerpos, e identificar, de este modo, las características y las secuencias necesarias para el reconocimiento de los anticuerpos:

Nombre del péptido	Secuencia de Abeta 3-16	
pE3-16	Pyr-EFRHDSGYEVHHQK-biotina	SEC ID N° 25
E3-16	EFRHDSGYEVHHQK-biotina	SEC ID N° 26
pEG4	Pyr-EGRHDSGYEVHHQK-biotina	SEC ID N° 27
mpE3-16	Pyr-EFGHDSGFVHHQK-biotina (roedor)	SEC ID N° 28
pEG6	Pyr-EFRGDSGYEVHHQK-biotina	SEC ID N° 29
pEG7	Pyr-EFRHSGGYEVHHQK-biotina	SEC ID N° 30
pEG8	Pyr-EFRHDGGYEVHHQK-biotina	SEC ID N° 37
pEF10	Pyr-EFRHDSGFVHHQK-biotina	SEC ID N° 39

5 Se evalúa la importancia de un (des 1,2) truncado y la forma modificada de ácido glutámico (3 pyr-E o 3 pyr-Glu) mediante la comparación de la unión de A $\beta$  1-42 frente a A $\beta$  3-16 frente a pE3-16 (SEC ID N° 1 frente a SEC ID N° 26 frente a SEC ID N° 25, respectivamente). Los péptidos se disuelven en PBS a 5 mg/ml antes de la dilución para los experimentos de unión.

10 Se evalúa la unión usando múltiples ciclos de análisis de captura de anticuerpos, la inyección/asociación del péptido, el flujo de tampón prolongado para la disociación y la regeneración de la superficie. Para la etapa de captura de anticuerpos, dependiendo del tipo de anticuerpo que se vaya a capturar, se inmoviliza un chip CM5 bien con proteína A o Fc de cabra anti-ratón. A excepción de los anticuerpos de ratón, cada ciclo se compone de: inyección de ~5-7  $\mu$ l de 10  $\mu$ g/ml de anticuerpo contra N3pGlu a 5  $\mu$ l/min (captura de aproximadamente 3.000 UR), inyección de 100  $\mu$ l del péptido a 50  $\mu$ l/min (1000 nM - 62,5 nM en dos diluciones en serie para cada ciclo), seguido de 10 minutos para la disociación. Para un anticuerpo de ratón, el caudal es de 50  $\mu$ l/min, y se inyectan 20  $\mu$ l de anticuerpo de ratón a 50  $\mu$ g/ml. En ambos casos, la superficie del chip se regenera usando 20  $\mu$ l de clorhidrato de glicina 10 mM, pH 1,5. A continuación, se obtiene la afinidad de unión ( $K_D$ ) a partir de las tasas de asociación y disociación para cada ciclo usando un modelo de unión 1:1 en el programa informático de análisis BIAevaluation. Los anticuerpos contra N3pGlu B12L y R17L, y el anticuerpo de ratón parental (mE8C) reconocen A $\beta$  N3pGlu específicamente, con una  $K_D$  inferior a 1 nM. Los anticuerpos contra N3pGlu B12L y R17L y el anticuerpo de ratón parental (mE8C) también se unen a pE3-16 con una afinidad similar, lo que indica que el epítipo se encuentra dentro de esta región de los péptidos. El análisis de unión de los anticuerpos a péptidos mutantes de glicina muestra que los residuos de importancia fundamental para la unión resultaron ser de 3 a 7: pyroE en la posición 3, F en la posición 4, R en la posición 5, H en la posición 6 y D en la posición 7. No se detecta la unión detectable a A $\beta$ <sub>1-40</sub> para 25 anticuerpos de la presente invención.

### Ejemplo 3: Afinidad de unión a N3pGlu agregado

También se realizan experimentos BIAcore® para controlar la unión de los anticuerpos contra N3pGlu al A $\beta$  N3pGlu agregado. En este experimento, se inmoviliza el péptido A $\beta$  N3pGlu a diferentes densidades a las celdas de flujo 2 (de baja densidad, LD), 3 (de densidad media, MD) y 4 (de alta densidad, HD) en un chip CM-5 mediante química de acoplamiento de amina. Se inmovilizan diferentes niveles de péptido A $\beta$  N3pGlu para examinar el impacto de la 30 densidad de superficie sobre la unión de los anticuerpos contra N3pGlu. Tras la inmovilización, la mayoría de A $\beta$  N3pGlu se agrega en la superficie como se demuestra por la falta de unión de un mAb de control que solo reconoce el péptido monomérico. Esta forma agregada del péptido imita la propiedad del péptido Abeta agregado en fibrillas o forma amiloidea, donde la región N-terminal de los péptidos queda al descubierto y puede ser la diana de los 35 anticuerpos.

La unión se evalúa usando múltiples ciclos de análisis a 25 °C. Cada ciclo se realiza a un caudal de 50  $\mu$ l/min, y consiste en las siguientes etapas: inyección de 250  $\mu$ l de solución de anticuerpo N3pGlu (comenzando a 500 nM y usando dos diluciones en serie para cada ciclo), seguida de 20 minutos de disociación, y la regeneración usando ~30  $\mu$ l de clorhidrato de glicina 10 mM, pH 1,5. Las tasas de asociación y disociación para cada ciclo se evalúan usando un modelo de ligando heterogéneo en el programa informático BIAevaluation. Dado que el modelo de unión 1:1 no se ajusta a los datos, el ajuste heterogéneo produce dos afinidades de unión (una baja y una alta afinidad). Los anticuerpos R17L y B12L, y el anticuerpo murino parental mE8c se unen al A $\beta$  N3pGlu agregado con alta afinidad  $K_{D,1} < 100$  pM y una afinidad inferior  $K_{D,2} < 10$  nM. La señal de unión máxima ( $R_{m\acute{a}x}$ ) se calculó como la suma de  $R_{m\acute{a}x}$  de la unión de alta y baja afinidad. La  $R_{m\acute{a}x}$  demostró aumentarse a medida que aumentaba la 45 densidad del péptido en la superficie, como se espera cuando hay más sitios de unión disponibles en la superficie de mayor densidad. Estos estudios de unión demuestran que los anticuerpos de la presente invención se unen al A $\beta$  N3pGlu agregado.

### Ejemplo 4: Estudios de unión a la diana ex vivo

Se realiza el análisis inmunohistoquímico con anticuerpos A $\beta$  añadidos exógenamente para determinar la unión a la

diana *ex vivo* en secciones de un cerebro PDAPP fijado (de 24 meses de edad). El ratón transgénico PDAPP ha mostrado desarrollar la mayor parte de la patología asociada con la enfermedad de Alzheimer. Para los anticuerpos murinos, se usó un marcador de biotina como marcador, ya que este experimento se realizó sobre tejido murino, y por lo tanto, no procede una comparación directa entre los anticuerpos contra N3pGlu no murinos y no biotinilados. El anticuerpo (1-5) N-terminal 3D6 biotinilado marca potentemente cantidades significativas del A $\beta$  depositado en el hipocampo PDAPP, mientras que el mE8 biotinilado solo marca un subconjunto de los depósitos. A diferencia del cerebro AD humano, la gran mayoría del A $\beta$  depositado en el cerebro PDAPP es de longitud completa. Se observa un marcaje de la placa similar para los anticuerpos contra N3pGlu no biotinilados, tales como B12L y R17L (en comparación con mE8). No se observa el marcaje específico de la placa para las IgG de control humanas ni de ratón. Debido a que la composición y la estructura probable del A $\beta$  depositado son radicalmente distintas en el cerebro AD, se examinan los anticuerpos contra N3pGlu no biotinilados (3 ug/ml) para determinar si se unen al A $\beta$  depositado en secciones de un cerebro AD recién congelado. El anticuerpo de control positivo (3D6 biotinilado) marca intensamente muchas placas A $\beta$  del cerebro AD, mientras que los anticuerpos de control negativo (IgG murinas y humanas) carecen de cualquier unión apreciable. Varios de los anticuerpos contra N3pGlu no biotinilados tales como B12L y R17L se unen de manera similar al A $\beta$  depositado. Estos estudios histológicos demuestran que los anticuerpos contra N3pGlu de la presente invención pueden unirse a la diana de A $\beta$  depositado *ex vivo*.

#### Ejemplo 5: Estudios de unión a la diana *in vivo*

Se mide la capacidad de los anticuerpos contra N3pGlu para unirse a la diana depositada *in vivo*. Se realiza un estudio subcrónico de 4 semanas con los anticuerpos murinos biotinilados 3D6 y mE8c a 40 mg/kg por vía intraperitoneal (IP) semanalmente. Se extraen los cerebros al concluir el experimento y se determina el nivel de unión a la diana mediante el examen histológico del cerebro. Los animales que reciben por inyección el 3D6 biotinilado tienen marcaje de la placa solo a lo largo de la fisura del hipocampo, mientras que los ratones que reciben por inyección el mE8c biotinilado muestran un fuerte marcaje de la placa en el hipocampo y en las regiones corticales. Se observan patrones de unión a la diana muy similares en un ensayo más agudo de 3 días (tinción en la fisura del hipocampo para 3D6 y marcaje tanto en el hipocampo como en las regiones corticales para mE8). Estos resultados sugieren con firmeza que el anticuerpo 3D6, que se une a A $\beta$  tanto soluble como insoluble, se está saturando con A $\beta$  soluble y, por lo tanto, no es capaz de unirse a la diana depositada deseada. En marcado contraste, el anticuerpo murino contra N3pGlu mE8c se une de manera constante a la diana prevista en ambas regiones críticas del cerebro. Se evalúan las dosis altas y bajas de los anticuerpos contra N3pGlu R17L y B12L, y se evalúan en un estudio *in vivo* de 3 días similar. Los anticuerpos son inyectados IP bien a 10 mg/kg (dosis baja) o a 40 mg/kg (dosis alta). Al concluir el estudio, se extraen el plasma y los cerebros, y se determina la farmacocinética del plasma. Se seccionan los cerebros y se realiza la inmunohistoquímica sobre secciones hermanas con un anticuerpo anti-humano (para detectar el anticuerpo contra N3pGlu unido) y 3D6 (para detectar la cantidad total de diana depositada en la sección). Para cuantificar mejor el nivel de unión a la diana *in vivo*, se normaliza el porcentaje de superficie unida por el anticuerpo contra N3pGlu frente al porcentaje de superficie total de la posible diana (A $\beta$  depositado total visualizado mediante la inmunohistoquímica de 3D6 exógeno). Además, se normaliza el porcentaje de unión a la diana global frente a los valores farmacocinéticos (PK) del plasma para cada ratón individual, pues se detectan exposiciones significativas al concluir el estudio. Se encuentra que los anticuerpos contra N3pGlu tanto R17L como B12L se unen a la placa depositada con una distribución similar a la observada con el anticuerpo murino contra N3pGlu (mE8). Estos resultados demuestran que los anticuerpos contra N3pGlu R17L y B12L, cuando se administran periféricamente, pueden atravesar la barrera hematoencefálica y unirse a la diana prevista de A $\beta$  depositado, mientras que un anticuerpo que se une a A $\beta$  tanto soluble como insoluble se satura con el soluble y no puede unirse a la diana depositada prevista.

#### Ejemplo 6: Estudios de reducción terapéutica de la placa

Se realiza un estudio de reducción terapéutica de la placa en ratones PDAPP de 23 meses de vida con los siguientes anticuerpos: anticuerpo de control negativo (IgG2a), 3D6, mE8 (IgG1) y mE8c (IgG2a). Los ratones PDAPP de edad avanzada reciben por inyección subcutánea 12,5 mg/kg de cada anticuerpo semanalmente durante tres meses. Al comenzar el estudio, se sometió a autopsia un grupo de ratones (punto temporal cero) con el fin de determinar la carga de la placa inicial a los 23 meses de vida. Al concluirse el estudio, se obtiene el plasma y se procesan los cerebros para determinar los resultados bioquímicos e histológicos (un hemiserebro de cada uno). Se homogenizan el hipocampo y las regiones corticales en guanidina 5 M, y se mide el contenido de A $\beta$  mediante geles de urea ácida seguidos de transferencia Western. Un análisis de los lisados de hipocampo con guanidina de las cohortes del control del punto temporal cero de 23 meses de vida y del control de anticuerpo negativo (de 26 meses de vida) muestran un aumento no significativo de A $\beta_{1-42}$  depositado; confirmándose así que los cerebros de los ratones PDAPP se encuentran en la meseta de la placa. Al igual que en estudios previos realizados en ratones PDAPP de edad avanzada, el tratamiento con el anticuerpo comparador 3D6 no tiene efecto en la reducción de la placa. El tratamiento con cualquier anticuerpo N3pGlu, mE8 o mE8c, da lugar a una reducción significativa de la placa en comparación con el anticuerpo de control negativo IgG2a ( $p < 0,01$  y  $p < 0,001$ , respectivamente) (Tabla 2). El mE8 y mE8c reducen A $\beta_{1-42}$  del hipocampo en ~38 % y ~53 %, respectivamente. El anticuerpo N3pGlu mE8c con la función efectora máxima tiende a ser más eficaz que el anticuerpo de la función efectora mínima mE8 (comparado con el control), sin embargo esta diferencia no alcanza significación estadística. Además, el anticuerpo mE8c tiene una reducción significativa de ~30 % de A $\beta_{1-42}$  en el hipocampo en comparación con los ratones del punto temporal cero (test t,  $p < 0,0066$ ), lo que indica el aclaramiento de la placa depositada previamente. Los análisis de los lisados

- 5 corticales de guanidina producen resultados muy similares, a excepción de que solo el mE8c con la función efectora máxima reduce significativamente la deposición de A $\beta$ <sub>1-42</sub>. Estos resultados demuestran que el tratamiento crónico con anticuerpos N3pGlu de este ejemplo reduce significativamente la deposición de placa en ratones PDAPP de edad avanzada de una forma dependiente de la función efectora. Además, estos resultados apoyan la hipótesis de que una unión baja a la diana para los anticuerpos A $\beta$  que se unen a A $\beta$  tanto soluble como insoluble (en oposición con la senescencia) fue el factor causante de su falta de eficacia cuando se usó en paradigmas terapéuticos.

**Tabla 2-Reducción de la placa en el hipocampo y en la corteza (ng de A $\beta$ <sub>1-42</sub>/mg de peso húmedo)**

Placa del hipocampo de ratones PDAPP de 23 a 26 meses de vida					
	Control del punto temporal cero	Control negativo - IgG2a	m3D6	mE8-IgG1	mE8c-IgG2a
Número de valores	15	27	30	27	23
Media	48,13	71,96	66,73	44,25	33,62
Desviación estándar	17,12	39,4	29,48	19,64	13,8
Error estándar	4,42	7,583	5,383	3,78	2,877
Placa de la corteza de ratones PDAPP de 23 a 26 meses de vida					
	Control del punto temporal cero	Control negativo - IgG2a	m3D6	mE8-IgG1	mE8c-IgG2a
Número de valores	15	27	30	27	24
Media	34,43	41,93	40,46	33,66	27,52
Desviación estándar	16,14	19,98	18,14	14,91	16,95
Error estándar	4,168	3,845	3,313	2,869	3,459

#### Ejemplo 7: Análisis de microhemorragias en ratones PDAPP de edad avanzada

- 10 Se realiza un estudio histológico para investigar si el mecanismo de acción de los anticuerpos N3pGlu que conduce a la reducción de la placa reducida en ratones PDAPP de edad avanzada daría lugar a un agravamiento de las microhemorragias relacionadas con la CAA. Estudios previos han demostrado que el tratamiento de ratones transgénicos APP de edad avanzada con ciertos anticuerpos amino-terminales y carboxilo-terminales contra A $\beta$  conducirán a un aumento de las microhemorragias relacionadas con la CAA (Pfeifer *et al.*, 2002; Wilcock *et al.* 2004; Racke *et al.*, 2005). Aunque el mecanismo que subyace a este posible hecho negativo no está claro, se han propuesto dos hipótesis que no se excluyen entre sí: la redistribución de A $\beta$  en los vasos sanguíneos cerebrales (Wilcock *et al.*, 2004) o la unión directa de los anticuerpos a la CAA existente (Racke *et al.*, 2005). Los análisis bioquímicos e histológicos demuestran que A $\beta$ <sub>p3-x</sub> es un constituyente de CAA tanto en los pacientes de AD como en los ratones PDAPP de edad avanzada. Se realiza un análisis histológico detallado de las microhemorragias en los ratones PDAPP de edad avanzada (de 23 a 26 meses de vida) que se han tratado terapéuticamente con N3pGlu y anticuerpos de control durante tres meses con inyecciones semanales por vía subcutánea de 12,5 mg/kg. El control positivo para el análisis de las microhemorragias es el de los animales tratados crónicamente con 3D6 que han demostrado previamente que este anticuerpo amino-terminal contra A $\beta$  agrava significativamente las microhemorragias (Racke *et al.* 2005). Al finalizarse el estudio, se fija un hemiserebro de cada animal en formaldehído al 4 % y se introduce en parafina. Se cortan secciones coronales que abarcan 2 mm de tejido en 50 portaobjetos (cuatro cortes de 10  $\mu$ m por portaobjetos). Se tiñen once portaobjetos de intervalos regulares en los 2 mm de tejido con azul Perls con el fin de visualizar la hemosiderina (acumulación de hierro celular debida a las microhemorragias). En dos secciones por portaobjeto, se realiza el recuento manual de una manera ciega. El tratamiento crónico de los ratones PDAPP de edad avanzada con 3D6 (control positivo) aumenta drásticamente las microhemorragias ( $p < 0,001$ ). Es importante destacar que se demuestra que el tratamiento bien con mE8 (IgG1) o con mE8c (IgG2a) no agrava las microhemorragias, a pesar de que estos anticuerpos N3pGlu reducen significativamente el A $\beta$  depositado en estos animales. Estos resultados demuestran que los anticuerpos N3pGlu de este ejemplo no agravan las microhemorragias relacionadas con la CAA en ratones PDAPP de edad avanzada.

#### Listado de secuencias

- 35 <SEC ID N°: 1; PRT1; Artificial>  
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA (A $\beta$  1-42)
- 40 <SEC ID N°: 2; PRT1; Artificial>  
[pE]FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA (N3pE A $\beta$ )
- <SEC ID N°: 3; PRT1; Artificial>  
KSSQSLLYSRGTLYLN (LCDR1-B12L/R17L/hE8L/R17)

<SEC ID N°: 4; PRT1; Artificial>  
AVSKLDS (LCDR2 - B12L/R17L/hE8L/CI-C7)

5 <SEC ID N°: 5; PRT1; Artificial>  
VQGTHYPFT (LCDR3 - B12L/R17L/hE8L/R17/CI-C7)

<SEC ID N°: 6; PRT1; Artificial>  
GYDFTRYIN (HCDR1 - B 12L)

10 <SEC ID N°: 7; PRT1; Artificial>  
GYTFTRYIN (HCDR1 - R17L/R17)

15 <SEC ID N°: 8; PRT1; Artificial>  
WINPGSGNTKYNEKFKG (HCDR2 - B12L/R17L/R17/CI-C7)

<SEC ID N°: 9; PRT1; Artificial>  
EGITVY (HCDR3 - B 12L)

20 <SEC ID N°: 10; PRT1; Artificial>  
EGTTVY (HCDR3 - R17L/R17)

<SEC ID N°: 11; PRT1; Artificial (LCVR  
B12L/R17L/hE8L)

25 DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLLIYAVSKLDSGV  
PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIK

<SEC ID N°: 12; PRT1; Artificial> (HCVR - B12L)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGNTK  
YNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGITVYWGQGTTVTVSS

30 <SEC ID N°: 13; PRT1; Artificial> (HCVR-R17L)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGNTKY  
NEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGTTVYWGQGTTVTVSS

35 <SEC ID N°: 14; PRT1; Artificial> (LC - B12L/R17L)

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLLIYAVSKLDSGV  
PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD  
EQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLSK  
ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

40 <SEC ID N°: 15; PRT1; Artificial> (HC - B12L)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGNTK  
YNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDAVYYCAREGITVYWGQGTTVTVSSASTKGP  
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV  
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD  
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH  
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF  
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH  
NHYTQKSLSLSPG

<SEC ID N°: 16; PRT1; Artificial> (HC - R17L)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGNTKY  
NEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDAVYYCAREGITVYWGQGTTVTVSSASTKGPS  
VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT  
VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT  
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH  
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF  
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH  
NHYTQKSLSLSPG

5

<SEC ID N°: 17; ADN; Artificial> (LCVR ADN- B12L/R17L)

GATATTGTGATGACTCAGACTCCACTCTCCCTGTCCGTCACCCCTGGACAGCCGGCCTCC  
ATCTCCTGCAAGTCAAGTCAGAGCCTCTTATATAGTCGCGGAAAAACCTATTTGAATTGG  
CTCCTGCAGAAGCCAGGCCAATCTCCACAGCTCCTAATTTATGCGGGTGTCTAAACTGGAC  
TCTGGGGTCCCAGACAGATTCAGCGGCAGTGGGTCAGGCACAGATTTCACTGAAAAT  
CAGCAGGGTGGAGGCCGAAGATGTTGGGGTTTATTACTGCGTGCAAGGTACACATTACC  
CATTCACGTTTGGCCAAGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

10

<SEC ID N°: 18; ADN; Artificial> (HCVR ADN- B 12L)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCAGTGAAGGT  
TTCCTGCAAGGCATCTGGTTACGACTTCACTAGATACTATATAAACTGGGTGCGACAGGC  
CCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTAATCCTGGAAGCGGTAATACTAAGT  
ACAATGAGAAATTCAAGGGCAGAGTCAACCATTACCGCGGACGAATCCACGAGCACAGCC  
TACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGA  
AGGCATCACGGTCTACTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

15

<SEC ID N°: 19; ADN; Artificial> (HCVR ADN- R17L)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCAGTGAAGGT  
TTCCTGCAAGGCATCTGGTTACACCTTCACTAGATATTATATAAACTGGGTGCGACAGGC  
CCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTAATCCTGGAAGCGGTAATACTAAGT  
ACAATGAGAAATTCAAGGGCAGAGTCACCATTACCGCGGACGAATCCACGAGCACAGCC  
TACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGA  
AGGCACAACGGTCTACTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

<SEC ID N°: 20; PRT1; Artificial> (LCVR - mE8)

NIVLTQTPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQRPQSPKRLIYAVSKLDSGVP  
DRFIGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCVQGTHYPFTFGSGTKLEIK

5

<SEC ID N°: 21; PRT1; Artificial> (HCVR - mE8)

EVQLLESGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKQRPQGLEWIGWINPGSGNTKYNE  
KFKGKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTREGETVYWGQGTTLTVSS

10

<SEC ID N°: 22; PRT1; Artificial> (LC - mE8 y mE8c)

NIVLTQTPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQRPQSPKRLIYAVSKLDSGVP  
DRFIGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCVQGTHYPFTFGSGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSE  
QLTSGGASVVCFLNFPKIDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKD  
EYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

15

<SEC ID N°: 23; PRT1; Artificial> (HC - mE8)

EVQLLESGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKQRPQGLEWIGWINPGSGNTKYNE  
KFKGKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTREGETVYWGQGTTLTVSSAKTTPPSVY  
PLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVP  
SSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKIKVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITLTPK  
VTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEF  
KCRVNSAAFPAIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPTPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQ  
WNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSL  
HSPGK

20

<SEC ID N°: 24; PRT1; Artificial> (HC - mE8c)

EVQLLESGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKQRPGQGLEWIGWINPGSGNTKYNE  
KFKGKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTREGETVYWGQGTTLTVSSAKTTAPSVY  
PLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTS  
STWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMI  
LSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYINSTLRVVSALPIQHQDWMS  
GKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDI

YVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGYSFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHT  
TKSFSRTPGK

<SEC ID N°: 25; PRT1; Artificial> (pE3-16)  
Pyr-EFRHDSGYEVHHQK-biotina

5

<SEC ID N°: 26; PRT1; Artificial> (E3-16)  
EFRHDSGYEVHHQK-biotina

<SEC ID N°: 27; PRT1; Artificial> (pEG4)  
Pyr-EGRHDSGYEVHHQK-biotina

10

<SEC ID N°: 28; PRT1; Artificial> (mpE3-16)  
Pyr-EFGHDSGFEVHHQK-biotina

<SEC ID N°: 29; PRT1; Artificial> (pEG6)  
Pyr-EFRGDSGYEVHHQK-biotina

15

<SEC ID N°: 30; PRT1; Artificial> (pEG7)  
Pyr-EFRHDSGYEVHHQK-biotina

20

<SEC ID N°: 31; PRT1; Artificial> (LCVR - hE8-C6)

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWYLQKPGQSPQLLIYAVSKLDSGV  
PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIK

25

<SEC ID N°: 32; PRT1; Artificial> (HCVR - hE8-C6)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGNTKY  
NEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREGETVYWGQGTITVTVSS

<SEC ID N°: 33; PRT1; Artificial> (LC - hE8-C6)

30

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWYLQKPGQSPQLLIYAVSKLDSGV  
PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD

EQLKSGTASVVCLLNNFYPRQAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSK  
ADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

<SEC ID N°: 34; PRT1; Artificial> (HC - hE8-C6)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGNTKY  
NEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGETVYWGQGTTVTVSSASTKGPS  
VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT  
VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT  
LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH  
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF  
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH  
NHYTQKSLSLSPG

<SEC ID N°: 35; PRT1; Artificial> (LCDR2 - R17)  
AVSKLGS

5

<SEC ID N°: 36; PRT1; Artificial> (LCVR-R17)

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWYLQKPGQSPQLLIYAVSKLGSGV  
PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHTYPFTFGQGTKLEIK

10

<SEC ID N°: 37; PRT1; Artificial> (pEG8)  
Pyr-EFRHDGGYEVHHQK-biotina

<SEC ID N°: 38; PRT1; Artificial> (LC - R17)

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWYLQKPGQSPQLLIYAVSKLGSGV  
PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHTYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD  
EQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSK  
ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

15

<SEC ID N°: 39; PRT1; Artificial> (pEF10)  
Pyr-EFRHDSGFEVHHQK-biotina

20

<SEC ID N°: 40; PRT1; Artificial> (HCDR1 - hE8L/CI-C7)  
GYTFTDYYIN

<SEC ID N°: 41; PRT1; Artificial> (HCDR3 - hE8L)  
EGETVY

25

<SEC ID N°: 42; PRT1; Artificial> (HCVR - hE8L)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGNTKY  
NEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGETVYWGQGTTVTVSS

30

<SEC ID N°: 43; ADN; Artificial> (HC ADN-R17L)



CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCAGTGAAGGT  
TTCCTGCAAGGCATCTGGTTACACCTTCACTAGATATTATATAAACTGGGTGCGACAGGC  
CCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTAATCCTGGAAGCGGTAATACTAAGT  
ACAATGAGAAATTCAAGGGCAGAGTCAACCATTACCGCGGACGAATCCACGAGCACAGCC  
TACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGA  
AGGCACAACGGTCTACTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCA  
AGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCG  
GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACTC  
AGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTA  
CTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTG  
CAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTT  
GTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCACAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCA  
GTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC  
ACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGT  
GGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC  
ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA  
GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCA  
AAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGACGAG  
CTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACAT  
CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCCCC  
GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGG  
  
TGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC  
ACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT

<SEC ID N°: 44; PRT1; Artificial> (HC - hE8L)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGNTKY  
NEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGETVYWGQTTVTVSSASTKGPS  
VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT  
VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT  
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH  
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF  
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH  
NHYTQKSLSLSPG

5

SEC<SEC ID N°: 45; PRT1; Artificial> (LCDR1 - CI-C7)  
KSTRSLLYSRSKTYLN

10

<SEC ID N°: 46; PRT1; Artificial> (HCDR3 - CI-C7)  
EGVTVY

<SEC ID N°: 47; PRT1; Artificial> (LCVR- CI-C7)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSTRSLLYSRSKTYLNWYQQKPGKAPKLLIYAVSKLDSG  
VPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVQGTHTYPETFGGGKVEIK

5 <SEC ID N°: 48; PRT1; Artificial> (HCVR- CI-C7)

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFDYYINWVRQMPGKGLEWMGWINPGSGNTKY  
NEKFKGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAREGVTVYWGQGLVTVSS

10 <SEC ID N°: 49; PRT1; Artificial> (LC - CI-C7)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSTRSLLYSRSKTYLNWYQQKPGKAPKLLIYAVSKLDSGV  
PSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVQGTHTYPETFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE  
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKA  
DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

<SEC ID N°: 50; PRT1; Artificial> (HC - CI-C7)

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFDYYINWVRQMPGKGLEWMGWINPGSGNTKY  
NEKFKGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAREGVTVYWGQGLVTVSSASTKGP  
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV  
VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGSVFLFPPKPKD  
TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH  
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF  
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALH  
NHYTQKSLSLSPG

15

<SEC ID N°: 51; PRT1; Secuencia artificial> (LCDR1 consenso)  
KSx<sub>1</sub>x<sub>2</sub>SLLYSR<sub>x<sub>3</sub></sub>KTYLN en la que x<sub>1</sub> es S o T, x<sub>2</sub> es Q o R, x<sub>3</sub> es G o S

20 <SEC ID N°: 52; PRT1; Secuencia artificial> (LCDR2 consenso)  
AVSKLx<sub>4</sub>S en la que x<sub>4</sub> es D o G

<SEC ID N°: 53; PRT1; Secuencia artificial> (HCDR1 consenso)  
GYx<sub>5</sub>FTx<sub>6</sub>YYIN en la que x<sub>5</sub> es D o T, x<sub>6</sub> es R o D

25

<SEC ID N°: 54; PRT1; Secuencia artificial> (HCDR3 consenso)  
EGx<sub>7</sub>TVY en la que x<sub>7</sub> es I, T, E, o V

30

<SEC ID N°: 55; PRT1; Secuencia artificial> (LC ADN-B12L/R17L)

GATATTGTGATGACTCAGACTCCACTCTCCCTGTCCGTACCCCTGGACAGCCGGCCTCC  
 ATCTCCTGCAAGTCAAGTCAAGTCAAGGCTCTTATATAGTCGCGGAAAAACCTATTTGAATTGG  
 CTCCTGCAGAAGCCAGGCCAATCTCCACAGCTCCTAATTTATGCGGTGTCTAAACTGGAC  
 TCTGGGGTCCCAGACAGATTCAAGCGGTCAGGGTTCAGGACAGATTTACACTGAAAAT  
 CAGCAGGGTGGAGGCCGAAGATGTTGGGGTTTATTACTGCGTGCAAGGTACACATTACC  
 CATTCACGTTTGCCAAAGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCT  
 GTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCC  
 TGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTC  
 CAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA  
 GCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCC  
 TCGAAGTCAACCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGA  
 GTGC

<SEC ID N°: 56; PRT1; Secuencia artificial> (HC ADN- B12L)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCAGTGAAGGT  
 TTCCTGCAAGGCATCTGGTTACGACTTCACTAGATACTATATAAACTGGGTGCGACAGGC  
 CCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTAATCCTGGAAGCGGTAATACTAAGT  
 ACAATGAGAAATTCAAGGGCAGAGTCAACATTACCGCGGACGAATCCACGAGCACAGCC  
 TACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGA  
 AGGCATCACGGTCTACTGGGGCCAAGGGACCACGGTCAACCGTCTCCTCAGCCTCCACCA  
 AGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCG  
 GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCAGGTGACGGTGTCTGTGAAACTC  
 AGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTA  
 CTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTG  
 CAACGTGAATCACAAGCCAGCAAACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTT  
 GTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCA  
 GTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGGTC  
 ACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGT  
 GGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC  
 ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA  
 GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCA  
 AAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGACGAG  
 CTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACAT  
 CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCCCC  
 GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGG  
 TGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC  
 ACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGT

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> Eli Lilly and Company
- 5 <120> Anticuerpos anti-péptido beta-amiloide N3pGlu y usos de los mismos
- <130> X19101
- <160> 56
- 10 <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
- <211> 42
- 15 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 20 <223> Sintética
- <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (1)..(42)
- 25 <223> Esta secuencia representa beta amiloide 1-42
- <400> 1
- ```

Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
1                5                10                15

Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile
                20                25                30

Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala
                35                40

```
- 30 <210> 2
- <211> 40
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 35 <220>
- <223> Sintética
- <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- 40 <222> (1)..(40)
- <223> Esta secuencia representa beta amiloide N3pE
- <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- 45 <222> (1)..(1)
- <223> Xaa en la posición 1 = ácido piroglutámico
- <400> 2

ES 2 564 252 T3

Xaa Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys Leu Val  
 1 5 10 15

Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile Gly Leu  
 20 25 30

Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala  
 35 40

5 <210> 3  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(16)  
 <223> Esta secuencia representa LCDR1-B12L/R17L/he8L/R17

<400> 3

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

20 <210> 4  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Sintética

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(7)  
 <223> Esta secuencia representa LCDR2-B12L/R17L/he8L/CI-C7

<400> 4

Ala Val Ser Lys Leu Asp Ser  
 1 5

35 <210> 5  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Sintética

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(9)  
 <223> Esta secuencia representa LCDR3-B12L/R17L/he8L/R17/CI-C7

50 <400> 5

ES 2 564 252 T3

Val Gln Gly Thr His Tyr Pro Phe Thr

1

5

5 <210> 6  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Sintética

15 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(10)  
<223> Esta secuencia representa HCDR1-B12L  
<400> 6

Gly Tyr Asp Phe Thr Arg Tyr Tyr Ile Asn  
1 5 10

20 <210> 7  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Sintética

30 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(10)  
<223> Esta secuencia representa HCDR1-R17L/R17  
<400> 7

Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Tyr Ile Asn  
1 5 10

35 <210> 8  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Sintética

45 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(17)  
<223> Esta secuencia representa HCDR2-B12L/R17L/R17/CI-C7

50 <400> 8

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

Gly

ES 2 564 252 T3

5 <210> 9  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(6)  
 <223> Esta secuencia representa HCDR3-B12L

15 <400> 9

**Glu Gly Ile Thr Val Tyr**  
**1 5**

20 <210> 10  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(6)  
 <223> Esta secuencia representa HCDR3-R17L/R17

30 <400> 10

**Glu Gly Thr Thr Val Tyr**  
**1 5**

35 <210> 11  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(112)  
 <223> Esta secuencia representa LCVR-B12L/R17L/hE8L

45 <400> 11

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

**Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser**  
**20 25 30**

50

ES 2 564 252 T3

Arg Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Ala Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro  
 50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly  
 85 90 95

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

<210> 12  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(115)  
 <223> Esta secuencia representa HCVR-B12L

<400> 12

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Gly Ile Thr Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr  
 100 105 110



ES 2 564 252 T3

Val Ser Ser  
115

5 <210> 13  
<211> 115  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Sintética

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(115)  
<223> Esta secuencia representa HCVR-R17L

15 <400> 13

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Gly Thr Thr Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr  
100 105 110

Val Ser Ser  
115

20 <210> 14  
<211> 219  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Sintética

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
30 <222> (1)..(219)  
<223> Esta secuencia representa LC-B12L/R17L

ES 2 564 252 T3

<400> 14

```

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
          20           25           30

Arg Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
          35           40           45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Ala Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
          50           55           60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly
          85           90           95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
          115          120          125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130          135          140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145          150          155          160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
          165          170          175

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

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210          215

```

5 <210> 15  
 <211> 444  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Sintética

5 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(444)  
<223> Esta secuencia representa HC-B12L

10 <400> 15

ES 2 564 252 T3

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Gly Ile Thr Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr  
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

ES 2 564 252 T3

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu  
 225 230 235 240

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

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

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

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
 305 310 315 320

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

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
 340 345 350

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

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
 385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 435 440

<210> 16  
 <211> 444  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(444)  
<223> Esta secuencia representa HC-R17L

5

<400> 16

ES 2 564 252 T3

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Gly Thr Thr Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr  
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu

ES 2 564 252 T3

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

<210> 17  
 <211> 336  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética



ES 2 564 252 T3

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(336)  
 <223> Esta secuencia representa LCVR ADN-B12L/R17L  
 5 <400> 17  
  
     **gatattgtga tgactcagac tccactctcc ctgtccgtca cccttgaca gccggcctcc**          60  
     **atctcctgca agtcaagtca gagcctotta tatagtcgcg gaaaaaccta tttgaattgg**          120  
     **ctcctgcaga agccaggcca atctccacag ctctaattt atgcggtgtc taaactggac**          180  
     **tctgggggtcc cagacagatt cagcggcagt gggtcaggca cagatttcac actgaaaatc**          240  
     **agcagggtgg aggccgaaga tgttggggtt tattactgcg tgcaaggtaac acattaccca**          300  
     **ttcacgtttg gccaaaggac caagctggag atcaaa**                                  336  
  
 10 <210> 18  
     <211> 345  
     <212> ADN  
     <213> Secuencia artificial  
  
 15 <220>  
     <223> Sintética  
  
     <220>  
     <221> misc\_feature  
 20 <222> (1)..(345)  
     <223> Esta secuencia representa HCVR ADN-B12L  
  
     <400> 18  
  
     **cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc agtgaaggtt**          60  
     **tcctgcaagg catctggtta cgacttcact agatactata taaactgggt gcgacaggcc**          120  
     **cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg attaactctg gaagcggtaa tactaagtac**          180  
     **aatgagaaat tcaagggcag agtcaccatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac**          240  
     **atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagaaggc**          300  
 25 <400> 18  
     **atcacggtct actggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctca**                          345  
  
 30 <210> 19  
     <211> 345  
     <212> ADN  
     <213> Secuencia artificial  
  
     <220>  
     <223> Sintética  
  
 35 <220>  
     <221> misc\_feature  
     <222> (1)..(345)  
     <223> Esta secuencia representa HCVR ADN-R17L  
  
 40 <400> 19

ES 2 564 252 T3

```

caggtgcagc tggcgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc agtgaaggtt      60
tcttgcaagg catctgggta caccttcaact agatattata taaactgggt gcgacaggcc      120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg attaatcctg gaagcggtaa tactaagtac      180
aatgagaaat tcaagggcag agtcaccatt accgcggcag aatccacgag cacagcctac      240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcctgtg attactgtgc gagagaaggc      300
acaacggtct actggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctca                          345

```

5 <210> 20  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(112)  
 <223> Esta secuencia representa LCVR-mE8

<400> 20

```

Asn Ile Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Arg Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly
85 90 95

Thr His Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

```

20 <210> 21  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Sintética

ES 2 564 252 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(115)  
 <223> Esta secuencia representa HCVR-mE8

5

<400> 21

```

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50           55           60

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

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

Thr Arg Glu Gly Glu Thr Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
100          105          110

Val Ser Ser
115
  
```

10 <210> 22  
 <211> 219  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Sintética

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(219)  
 <223> Esta secuencia representa LC-mE8 y mE8c

<400> 22

ES 2 564 252 T3

Asn Ile Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly  
 1                                    5                                    10                                    15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser  
                                   20                                    25                                    30

Arg Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
                                   35                                    40                                    45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro  
                                   50                                    55                                    60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly  
                                   85                                    90                                    95

Thr His Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
                                   100                                    105                                    110

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu  
                                   115                                    120                                    125

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe  
                                   130                                    135                                    140

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg  
 145                                    150                                    155                                    160

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
                                   165                                    170                                    175

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu  
                                   180                                    185                                    190

Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser  
                                   195                                    200                                    205

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys  
                                   210                                    215

ES 2 564 252 T3

5  
<210> 23  
<211> 439  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Sintética

10  
<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(439)  
<223> Esta secuencia representa HC-mE8

<400> 23

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

15  
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr  
20 25 30

ES 2 564 252 T3

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

ES 2 564 252 T3

Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp  
 290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe  
 305 310 315 320

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys  
 325 330 335

Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys  
 340 345 350

Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp  
 355 360 365

Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys  
 370 375 380

Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser  
 385 390 395 400

Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr  
 405 410 415

Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser  
 420 425 430

Leu Ser His Ser Pro Gly Lys  
 435

<210> 24  
 <211> 445  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(445)  
 <223> Esta secuencia representa HC-mE8c

<400> 24

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

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

ES 2 564 252 T3

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



ES 2 564 252 T3

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 290 |     | 295 |     | 300 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Pro | Ile | Gln | His | Gln | Asp | Trp | Met | Ser | Gly | Lys | Glu | Phe | Lys | Cys | Lys |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Val | Asn | Asn | Lys | Asp | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Arg | Thr | Ile | Ser | Lys |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Pro | Lys | Gly | Ser | Val | Arg | Ala | Pro | Gln | Val | Tyr | Val | Leu | Pro | Pro | Pro |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Glu | Glu | Glu | Met | Thr | Lys | Lys | Gln | Val | Thr | Leu | Thr | Cys | Met | Val | Thr |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asp | Phe | Met | Pro | Glu | Asp | Ile | Tyr | Val | Glu | Trp | Thr | Asn | Asn | Gly | Lys |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Thr | Glu | Leu | Asn | Tyr | Lys | Asn | Thr | Glu | Pro | Val | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Tyr | Phe | Met | Tyr | Ser | Lys | Leu | Arg | Val | Glu | Lys | Lys | Asn | Trp | Val |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Glu | Arg | Asn | Ser | Tyr | Ser | Cys | Ser | Val | Val | His | Glu | Gly | Leu | His | Asn |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| His | His | Thr | Thr | Lys | Ser | Phe | Ser | Arg | Thr | Pro | Gly | Lys |     |     |     |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |

- 5 <210> 25
- <211> 14
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
  
- 10 <220>
- <223> Construcción sintética
  
- 15 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (1)..(14)
- <223> Esta secuencia representa pE3-16
  
- 20 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (1)..(1)
- <223> Xaa en la posición 1 = ácido piroglutámico
  
- 25 <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (14)..(14)
- <223> Lys en la posición 14 está modificada con biotina
  
- <400> 25

ES 2 564 252 T3

**Xaa Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys**  
**1 5 10**

5 <210> 26  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Construcción sintética

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(14)  
 <223> Esta secuencia representa E3-16

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (14)..(14)  
 <223> Lys en la posición 14 está modificada con biotina

<400> 26

**Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys**  
**1 5 10**

25 <210> 27  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Construcción sintética

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(14)  
 <223> Esta secuencia representa pEG4

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa en la posición 1 = ácido piroglutámico

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (14)..(14)  
 <223> Lys en la posición 14 está modificada con biotina

<400> 27

**Xaa Gly Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys**  
**1 5 10**

50 <210> 28  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> *Rattus rattus*

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(14)  
 <223> Esta secuencia representa mpE3-16

ES 2 564 252 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa en la posición 1 = ácido piroglutámico  
 5

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (14)..(14)  
 <223> Lys en la posición 14 está modificada con biotina  
 10

<400> 28

**Xaa Phe Gly His Asp Ser Gly Phe Glu Val His His Gln Lys**  
**1 5 10**

<210> 29  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15

<220>  
 <223> Construcción sintética  
 20

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(14)  
 <223> Esta secuencia representa pEG6  
 25

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa en la posición 1 = ácido piroglutámico  
 30

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (14)..(14)  
 <223> Lys en la posición 14 está modificada con biotina  
 35

<400> 29

**Xaa Phe Arg Gly Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys**  
**1 5 10**

<210> 30  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40

<220>  
 <223> Construcción sintética  
 45

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(14)  
 <223> Esta secuencia representa pEG7  
 50

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa en la posición 1 = ácido piroglutámico  
 55

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (14)..(14)  
 <223> Lys en la posición 14 está modificada con biotina  
 60

ES 2 564 252 T3

<400> 30

**Xaa Phe Arg His Gly Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys**  
**1 5 10**

5 <210> 31  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(112)  
 <223> Esta secuencia representa LCVR-hE8-C6

<400> 31

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

**Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser**  
**20 25 30**

**Arg Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser**  
**35 40 45**

**Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Ala Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro**  
**50 55 60**

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

**Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly**  
**85 90 95**

20 **Thr His Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys**  
**100 105 110**

<210> 32  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(115)  
 <223> Esta secuencia representa HCVR-hE8-C6

35 <400> 32

ES 2 564 252 T3

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Gly Glu Thr Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser  
 115

5 <210> 33  
 <211> 219  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(219)  
 <223> Esta secuencia representa LC-hE8-C6

<400> 33

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser  
 20 25 30

ES 2 564 252 T3

Arg Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Ala Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro  
 50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly  
 85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
 130 135 140

Tyr Pro Arg Gln Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
 165 170 175

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

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 34  
 <211> 444  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(444)  
 <223> Esta secuencia representa HC-hE8-C6

<400> 34

ES 2 564 252 T3

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Gly Glu Thr Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr  
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu  
225 230 235 240

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

ES 2 564 252 T3

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

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

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
305 310 315 320

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

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
340 345 350

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

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
435 440

<210> 35  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Sintética

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(7)  
<223> Esta secuencia representa LCDR2-R17

<400> 35



Ala Val Ser Lys Leu Gly Ser

1

5

5 <210> 36  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(112)  
 <223> Esta secuencia representa LCVR-R17

15 <400> 36

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser  
 20 25 30

Arg Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Ala Val Ser Lys Leu Gly Ser Gly Val Pro  
 50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly  
 85 90 95

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

20 <210> 37  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Construcción sintética

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(14)  
 <223> Esta secuencia representa pEG8

<220>

<221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa en la posición 1 = ácido piroglutámico

5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (14)..(14)  
 <223> Lys en la posición 14 está modificada con biotina

10 <400> 37

**Xaa Phe Arg His Asp Gly Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys**  
**1 5 10**

15 <210> 38  
 <211> 219  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Sintética

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(219)  
 25 <223> Esta secuencia representa LC-R17

<400> 38

ES 2 564 252 T3

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

<210> 39  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

ES 2 564 252 T3

<220>  
 <223> Construcción sintética

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(14)  
 <223> Esta secuencia representa pEF10

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa en la posición 1 = ácido piroglutámico

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (14)..(14)  
 <223> Lys en la posición 14 está modificada con biotina

20 <400> 39

|            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>Xaa</b> | <b>Phe</b> | <b>Arg</b> | <b>His</b> | <b>Asp</b> | <b>Ser</b> | <b>Gly</b> | <b>Phe</b> | <b>Glu</b> | <b>Val</b> | <b>His</b> | <b>His</b> | <b>Gln</b> | <b>Lys</b> |
| <b>1</b>   |            |            |            | <b>5</b>   |            |            |            |            | <b>10</b>  |            |            |            |            |

<210> 40  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Sintética

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(10)  
 <223> Esta secuencia representa HCDR1-hE8L/CI-C7

<400> 40

|            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>Gly</b> | <b>Tyr</b> | <b>Thr</b> | <b>Phe</b> | <b>Thr</b> | <b>Asp</b> | <b>Tyr</b> | <b>Tyr</b> | <b>Ile</b> | <b>Asn</b> |
| <b>1</b>   |            |            |            | <b>5</b>   |            |            |            |            | <b>10</b>  |

40 <210> 41  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Sintética

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(6)  
 <223> Esta secuencia representa HCDR3-hE8L

<400> 41

|            |            |            |            |            |            |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>Glu</b> | <b>Gly</b> | <b>Glu</b> | <b>Thr</b> | <b>Val</b> | <b>Tyr</b> |
| <b>1</b>   |            |            |            | <b>5</b>   |            |

55 <210> 42  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

60 <210> 42  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

ES 2 564 252 T3

<220>  
 <223> Sintética

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(115)  
 <223> Esta secuencia representa HCVR-hE8L

10 <400> 42

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

15 <210> 43  
 <211> 1332  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Construcción sintética

25 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(1332)  
 <223> Esta secuencia representa HC ADN-R17L

30 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(1332)  
 <223> Esta secuencia representa HC ADN-R17L

<400> 43

ES 2 564 252 T3

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc agtgaaggtt 60  
 tcctgcaagg catctggtta caccttact agatattata taaactgggt gcgacaggcc 120  
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg attaatcctg gaagcggtaa tactaagtac 180  
 aatgagaaat tcaagggcag agtcaccatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac 240  
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagaagggc 300  
 acaacggctct actggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctcagcctc caccaagggc 360  
 ccatcggctct tcccgttagc accctcctcc aagagcacct ctggggggcac agcggccctg 420  
 ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc 480  
 ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtcctacagt cctcaggact ctactcctc 540  
 agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600  
 aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaagtgt agcccaaatc ttgtgacaaa 660  
 actcacacat gccaccgtg cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttctc 720  
 ttcccccaa aaccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg 780  
 gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840  
 gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 900  
 gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 960  
 gtctccaaca aagccctccc agccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020  
 ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg acgagctgac caagaaccag 1080  
 gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140

<210> 44  
 <211> 444  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(444)  
 <223> Esta secuencia representa HC-hE8L

<400> 44

ES 2 564 252 T3

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

ES 2 564 252 T3

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

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

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

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

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu  
 225 230 235 240

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

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

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

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
 305 310 315 320

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

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
 340 345 350

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

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
 385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn



ES 2 564 252 T3

420

425

430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
435 440

5 <210> 45  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Sintética

15 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(16)  
<223> Esta secuencia representa I, CDR1-CI-C7

<400> 45

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

20 <210> 46  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Sintética

30 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(6)  
<223> Esta secuencia representa HCDR3-CI-C7

<400> 46

Glu Gly Val Thr Val Tyr  
1 5

35 <210> 47  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Sintética

45 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(112)  
<223> Esta secuencia representa LCVR-CI-C7

50 <400> 47

ES 2 564 252 T3

```

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

```

```

5 <210> 48
  <211> 115
  <212> PRT
  <213> Secuencia artificial

10 <220>
  <223> Sintética

15 <220>
  <221> MISC_FEATURE
  <222> (1)..(115)
  <223> Esta secuencia representa HCVR-CI-C7

  <400> 48

```

ES 2 564 252 T3

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

5 <210> 49  
 <211> 219  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 10 <220>  
 <223> Sintética  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(219)  
 <223> Esta secuencia representa LC-CI-C7  
 15 <400> 49

ES 2 564 252 T3

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

<210> 50  
 <211> 444  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

ES 2 564 252 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(444)  
 <223> Esta secuencia representa HC-CI-C7

5

<400> 50

```

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20          25          30

Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35          40          45

Gly Trp Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50          55          60

Lys Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65          70          75          80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85          90          95

Ala Arg Glu Gly Val Thr Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100         105         110

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

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
    
```

ES 2 564 252 T3

|            |     |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |     |     |            |
|------------|-----|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----|-----|------------|
| 130        |     |            |            |            |            | 135        |            |            |            |            |            | 140        |     |     |            |
| Lys<br>145 | Asp | Tyr        | Phe        | Pro        | Glu<br>150 | Pro        | Val        | Thr        | Val        | Ser<br>155 | Trp        | Asn        | Ser | Gly | Ala<br>160 |
| Leu        | Thr | Ser        | Gly        | Val<br>165 | His        | Thr        | Phe        | Pro        | Ala<br>170 | Val        | Leu        | Gln        | Ser | Ser | Gly<br>175 |
| Leu        | Tyr | Ser        | Leu        | Ser<br>180 | Ser        | Val        | Val        | Thr<br>185 | Val        | Pro        | Ser        | Ser        | Ser | Leu | Gly<br>190 |
| Thr        | Gln | Thr<br>195 | Tyr        | Ile        | Cys        | Asn        | Val<br>200 | Asn        | His        | Lys        | Pro        | Ser<br>205 | Asn | Thr | Lys        |
| Val<br>210 | Asp | Lys        | Lys        | Val        | Glu        | Pro<br>215 | Lys        | Ser        | Cys        | Asp        | Lys<br>220 | Thr        | His | Thr | Cys        |
| Pro<br>225 | Pro | Cys        | Pro        | Ala        | Pro<br>230 | Glu        | Leu        | Leu        | Gly        | Gly<br>235 | Pro        | Ser        | Val | Phe | Leu<br>240 |
| Phe        | Pro | Pro        | Lys        | Pro<br>245 | Lys        | Asp        | Thr        | Leu        | Met<br>250 | Ile        | Ser        | Arg        | Thr | Pro | Glu<br>255 |
| Val        | Thr | Cys        | Val<br>260 | Val        | Val        | Asp        | Val        | Ser<br>265 | His        | Glu        | Asp        | Pro        | Glu | Val | Lys<br>270 |
| Phe        | Asn | Trp<br>275 | Tyr        | Val        | Asp        | Gly        | Val<br>280 | Glu        | Val        | His        | Asn        | Ala<br>285 | Lys | Thr | Lys        |
| Pro<br>290 | Arg | Glu        | Glu        | Gln        | Tyr        | Asn<br>295 | Ser        | Thr        | Tyr        | Arg        | Val<br>300 | Val        | Ser | Val | Leu        |
| Thr<br>305 | Val | Leu        | His        | Gln        | Asp<br>310 | Trp        | Leu        | Asn        | Gly        | Lys<br>315 | Glu        | Tyr        | Lys | Cys | Lys<br>320 |
| Val        | Ser | Asn        | Lys        | Ala<br>325 | Leu        | Pro        | Ala        | Pro        | Ile<br>330 | Glu        | Lys        | Thr        | Ile | Ser | Lys<br>335 |
| Ala        | Lys | Gly        | Gln        | Pro<br>340 | Arg        | Glu        | Pro        | Gln<br>345 | Val        | Tyr        | Thr        | Leu        | Pro | Pro | Ser<br>350 |
| Arg        | Asp | Glu<br>355 | Leu        | Thr        | Lys        | Asn        | Gln<br>360 | Val        | Ser        | Leu        | Thr        | Cys<br>365 | Leu | Val | Lys        |
| Gly<br>370 | Phe | Tyr        | Pro        | Ser        | Asp        | Ile<br>375 | Ala        | Val        | Glu        | Trp        | Glu<br>380 | Ser        | Asn | Gly | Gln        |
| Pro<br>385 | Glu | Asn        | Asn        | Tyr        | Lys<br>390 | Thr        | Thr        | Pro        | Pro        | Val<br>395 | Leu        | Asp        | Ser | Asp | Gly<br>400 |

ES 2 564 252 T3

**Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln**  
 405 410 415

**Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn**  
 420 425 430

**His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly**  
 435 440

5 <210> 51  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(16)  
 <223> Esta secuencia representa LCDR1 consenso

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X en la posición 3 = S o T

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (4)..(4)  
 <223> X en la posición 4 = Q o R

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (11)..(11)  
 <223> X en la posición 11 = G o S

30 <400> 51

**Lys Ser Xaa Xaa Ser Leu Leu Tyr Ser Arg Xaa Lys Thr Tyr Leu Asn**  
 1 5 10 15

35 <210> 52  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Sintética

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(7)  
 <223> Esta secuencia representa LCDR2 consenso

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (6)..(6)  
 <223> X en la posición 6 = D o G

<400> 52

ES 2 564 252 T3

**Ala Val Ser Lys Leu Xaa Ser**  
**1 5**

5 <210> 53  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(10)  
 <223> Esta secuencia representa HCDR1 consenso

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X en la posición 3 = D o T

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (6)..(6)  
 <223> X en la posición 6 = R o D

<400> 53

**Gly Tyr Xaa Phe Thr Xaa Tyr Tyr Ile Asn**  
**1 5 10**

30 <210> 54  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> Sintética

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(6)  
 <223> Esta secuencia representa HCDR3 consenso

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X en la posición 3 = I, T, E o V

<400> 54

**Glu Gly Xaa Thr Val Tyr**  
**1 5**

50 <210> 55  
 <211> 657  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <223> Sintética

60 <220>



ES 2 564 252 T3

<221> misc\_feature  
 <222> (1)..(657)  
 <223> Esta secuencia representa LC ADN-B12L/R17L

5 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(657)  
 <223> Esta secuencia representa LC ADN-B12L/R17L

10 <400> 55

```

gatattgtga tgactcagac tccactctcc ctgtccgtca ccctggaca gccggcctcc      60
atctcctgca agtcaagtca gagcctctta tatagtcgcg gaaaaaccta tttgaattgg      120
ctcctgcaga agccaggcca atctccacag ctctaattt atgcggtgtc taaactggac      180
tctgggggtcc cagacagatt cagcggcagt gggtcaggca cagatttcac actgaaaatc      240
agcagggtgg aggccgaaga tgttggggtt tattactgcg tgcaaggtag acattaccca      300
ttcacgtttg gcccaaggac caagctggag atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc      360
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgctg      420
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgcctccaa      480
tcgggtaact ccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc      540
agcagcacc cagcgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcaa      600
gtcacccatc agggcctgag ctogcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgc      657
    
```

15 <210> 56  
 <211> 1332  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Sintética

25 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(1332)  
 <223> Esta secuencia representa HC ADN-B12L

<400> 56

ES 2 564 252 T3

|             |             |            |            |            |            |      |
|-------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------|
| caggtgcagc  | tggtgcagtc  | tgggctgag  | gtgaagaagc | ctgggtcctc | agtgaaggtt | 60   |
| tcttgcaagg  | catctgggta  | cgacttcact | agatactata | taaactgggt | gcgacaggcc | 120  |
| cctggacaag  | ggcttgagtg  | gatgggatgg | attaatcctg | gaagcggtaa | tactaagtac | 180  |
| aatgagaaat  | tcaagggcag  | agtcaccatt | acgcgggacg | aatccacgag | cacagcctac | 240  |
| atggagctga  | gcagcctgag  | atctgaggac | acggccgtgt | attactgtgc | gagagaagge | 300  |
| atcacggctct | actggggcca  | agggaccacg | gtcacctctc | cctcagcctc | caccaagggc | 360  |
| ccatcggctct | tcccgcctagc | accctcctcc | aagagcacct | ctgggggcac | agcggccctg | 420  |
| ggctgcctgg  | tcaaggacta  | cttccccgaa | ccggtgacgg | tgtcgtggaa | ctcaggcgcc | 480  |
| ctgaccagcg  | gcgtgcacac  | cttcccggtc | gtcctacagt | cctcaggact | ctactcctc  | 540  |
| agcagcgtgg  | tgaccgtgcc  | ctccagcagc | ttgggcaccc | agacctacat | ctgcaacgtg | 600  |
| aatcacaagc  | ccagcaacac  | caaggtggac | aagaaagttg | agcccaaate | ttgtgacaaa | 660  |
| actcacacat  | gcccaccgtg  | cccagcacct | gaactcctgg | ggggaccgtc | agtcttcctc | 720  |
| ttcccccaa   | aaoccaagga  | caccctcatg | atctcccgga | cccctgaggt | cacatgctg  | 780  |
| gtggtggacg  | tgagccacga  | agaccctgag | gtcaagttca | actggtacgt | ggacggcgtg | 840  |
| gaggtgcata  | atgccaagac  | aaagccgcgg | gaggagcagt | acaacagcac | gtaccgtgtg | 900  |
| gtcagcgtcc  | tcaccgtcct  | gcaccaggac | tggtggaatg | gcaaggagta | caagtgcaag | 960  |
| gtctccaaca  | aagccctccc  | agccccatc  | gagaaaacca | tctccaaagc | caaagggcag | 1020 |
| ccccgagaac  | cacaggtgta  | caccctgccc | ccatcccggg | acgagctgac | caagaaccag | 1080 |
| gtcagcctga  | cctgctgggt  | caaaggcttc | tatcccagcg | acatcgcctg | ggagtgggag | 1140 |
| agcaatgggc  | agccggagaa  | caactacaag | accacgcccc | ccgtgctgga | ctccgacggc | 1200 |
| tccttcttcc  | tctatagcaa  | gctcaccgtg | gacaagagca | ggtggcagca | ggggaacgtc | 1260 |
| ttctcatget  | ccgtgatgca  | tgaggctctg | cacaaccact | acacgcagaa | gagcctctcc | 1320 |
| ctgtctccgg  | gt          |            |            |            |            | 1332 |

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  humano diseñado por ingeniería genética o fragmento de unión al antígeno del mismo, que comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) y una región variable de cadena pesada (HCVR), en el que dicha LCVR comprende los polipéptidos LCDR1, LCDR2 y LCDR3, y HCVR comprende los polipéptidos HCDR1, HCDR2 y HCDR3 que se seleccionan entre:
- 10 a) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEC ID N° 3), LCDR2 es AVSKLDS (SEC ID N° 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEC ID N° 5), HCDR1 es GYDFTRYIN (SEC ID N° 6), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEC ID N° 8) y HCDR3 es EGITVY (SEC ID N° 9);
- 10 b) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEC ID N° 3), LCDR2 es AVSKLDS (SEC ID N° 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEC ID N° 5), HCDR1 es GYTFTRYIN (SEC ID N° 7), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEC ID N° 8) y HCDR3 es EGTTVY (SEC ID N° 10);
- 15 c) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEC ID N° 3), LCDR2 es AVSKLDS (SEC ID N° 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEC ID N° 5), HCDR1 es GYTFTDYIN (SEC ID N° 40), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEC ID N° 8) y HCDR3 es EGETVY (SEC ID N° 41);
- 15 d) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEC ID N° 3), LCDR2 es AVSKLGS (SEC ID N° 35), LCDR3 es VQGTHYPFT 5 (SEC ID N° 5), HCDR1 es GYTFTRYIN (SEC ID N° 7), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEC ID N° 8) y HCDR3 es EGTTVY (SEC ID N° 10); y
- 20 e) LCDR1 es KSTRSLLYSRSKTYLN (SEC ID N° 45), LCDR2 es AVSKLDS (SEC ID N° 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEC ID N° 5), HCDR1 es GYTFTDYIN (SEC ID N° 40), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEC ID N° 8), y HCDR3 es EGVTVY (SEC ID N° 46).
2. Un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) y una región variable de cadena pesada (HCVR), en el que dichas LCVR y HCVR son polipéptidos seleccionados entre:
- 25 a) LCVR de SEC ID N° 11 y HCVR de SEC ID N° 12;
- 25 b) LCVR de SEC ID N° 11 y HCVR de SEC ID N° 13;
- 25 c) LCVR de SEC ID N° 11 y HCVR de SEC ID N° 42; y
- 25 d) LCVR de SEC ID N° 47 y HCVR de SEC ID N° 48.
3. Un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 2 que comprende una cadena ligera (LC) y una cadena pesada (HC), en el que los polipéptidos LC y HC se seleccionan entre:
- 30 a) LC de SEC ID N° 14 y HC de SEC ID N° 15;
- 30 b) LC de SEC ID N° 14 y HC de SEC ID N° 16;
- 30 c) LC de SEC ID N° 14 y HC de SEC ID N° 44; y
- 30 d) LC de SEC ID N° 49 y HC de SEC ID N° 50.
- 35 4. Un anticuerpo monoclonal anti-N3pGlu A $\beta$  o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 3 que comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en el que cada cadena ligera y cada cadena pesada son polipéptidos seleccionados entre:
- 40 a) LC de SEC ID N° 14 y HC de SEC ID N° 15;
- 40 b) LC de SEC ID N° 14 y HC de SEC ID N° 16;
- 40 c) LC de SEC ID N° 14 y HC de SEC ID N° 44; y
- 40 d) LC de SEC ID N° 49 y HC de SEC ID N° 50.
5. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 45 6. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable para su uso en terapia.
- 50 7. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento de una afección seleccionada entre la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Alzheimer clínica o preclínica, la enfermedad de Alzheimer prodrómica, el síndrome de Down, o la CAA clínica o preclínica.
8. Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para su uso en terapia.
- 55 9. Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones

1 a 4 para su uso en el tratamiento de una afección seleccionada entre la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Alzheimer clínica o preclínica, la enfermedad de Alzheimer prodrómica, el síndrome de Down, o la CAA clínica o preclínica.