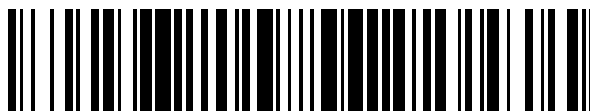


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 586 825**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/00** (2006.01)

**C07K 16/28** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.01.2007** **E 11005097 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.05.2016** **EP 2463305**

54 Título: **Anticuerpos para OX-2/CD200 y usos de los mismos**

30 Prioridad:

**12.01.2006 US 759085 P**

**12.01.2006 US 758426 P**

**18.05.2006 US 801991 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la  
traducción de la patente:  
**19.10.2016**

73 Titular/es:

**ALEXION PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)**  
**352 Knotter Drive**  
**Cheshire, CT 06410, US**

72 Inventor/es:

**BOWDISH, KATHRINE S.;**  
**KRETZ-ROMMEL, ANKE;**  
**FAAS MCKNIGHT, SUSAN;**  
**SPRINGHORN, JEREMY P. y**  
**WU, DAYANG**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 586 825 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 para OX-2/CD200 y usos de los mismos

5 Solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica las ventajas de la Solicitud Provisional de Estados Unidos n.º 60/758.426, presentada el 12 de enero de 2006, 60/759.085, presentada el 12 de enero de 2006 y 60/801.991, presentada el 18 de mayo de 2006.

10 Campo técnico

La divulgación se refiere a antagonistas de OX-2/CD200 (denominado CD200 en lo sucesivo en el presente documento) y a métodos para reducir o eliminar células que sobreexpresan CD200 en sujetos con cáncer o enfermedad autoinmunitaria. Los métodos de terapia para el tratamiento de cáncer proporcionan una combinación de dos mecanismos. De forma más específica, la presente divulgación se refiere al tratamiento del cáncer usando una terapia que: (1) interfiere con la interacción entre CD200 y su receptor para bloquear la supresión inmunitaria estimulando de ese modo la erradicación de las células cancerosas; y/o (2) elimina directamente las células cancerosas ya sea mediante (a) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo o citotoxicidad mediada por complemento o mediante (b) dirección de células usando una molécula de fusión que incluye una parte de dirección a CD200. La divulgación también se refiere a un método para tratar trastornos autoinmunitarios con una terapia que aumenta la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo y/o citotoxicidad mediada por complemento de células inmunitarias positivas para CD200.

25 Antecedentes

Diversos mecanismos desempeñan un papel en la respuesta del organismo a una patología, incluyendo el cáncer. Por ejemplo, los linfocitos T CD4<sup>+</sup> auxiliares desempeñan un papel fundamental en una respuesta inmunitaria eficaz frente a diversos trastornos malignos proporcionando factores estimulatorios a células efectoras. Se cree que los linfocitos T citotóxicos son las células más eficaces para eliminar las células cancerosas, y los linfocitos T auxiliares ceban los linfocitos T citotóxicos mediante la secreción de citoquinas Th1 tales como IL-2 e IFN- $\gamma$ . En diversos trastornos malignos, se ha mostrado que los linfocitos T auxiliares tienen un fenotipo alterado en comparación con células encontradas en individuos sanos. Una de las características importantes es la disminución de la producción de la citoquina Th1 y un desplazamiento a la producción de citoquinas Th2. (Véase, por ejemplo, Kiani, *et al.*, Haematologica 88: 754-761 (2003); Maggio, *et al.*, Ann Oncol 13 Supl 1:52-56 (2002); Ito, *et al.*, Cancer 85: 2359-2367 (1999); Podhorecka, *et al.*, Leuk Res 26: 657-660 (2002); Tatsumi, *et al.*, J Exp Med 196:619-628 (2002); Agarwal, *et al.*, Immunol Invest 32: 17-30 (2003); Smyth, *et al.*, Ann Surg Oncol 10: 455-462 (2003); Contasta, *et al.*, Cancer Biother Radiopharm 18: 549-557 (2003); Lauerova, *et al.*, Neoplasma 49: 159-166(2002)). Se ha demostrado que la inversión de ese desplazamiento de citoquina a un perfil de Th1 aumenta los efectos antitumorales de los linfocitos T. (Véase Winter, *et al.*, Immunology 108: 409-419 (2003); Inagawa, *et al.*, Anticancer Res 18: 3957-3964 (1998)).

Algunos mecanismos que subyacen a la capacidad de las células tumorales para conducir la expresión de citoquina de linfocitos T auxiliares de Th1 a Th2 incluyen la secreción de citoquinas tales como IL-10 o TGF- $\beta$  así como la expresión de moléculas de superficie que interactúan con células del sistema inmunitario. CD200, una molécula expresada en la superficie de células dendríticas que posee un alto grado de homología con respecto a moléculas de la familia genética de inmunoglobulina, se ha visto implicada en la supresión inmunitaria (Gorczynski *et al.*, Transplantation 65: 1106-1114 (1998)). Por ejemplo, se ha mostrado que algunas células que expresan CD200 pueden inhibir la estimulación de la producción de citoquina Th1.

Aunque las células inmunitarias pueden ayudar a atacar y eliminar células cancerosas, en ciertos casos, tales como en trastornos autoinmunitarios, alergias, y el rechazo de trasplante de tejido u órganos, el sistema inmunitario puede ser la causa de enfermedad. En estos casos, para inhibir algunas reacciones inmunitarias dañinas, se pueden administrar agentes inmunosupresores tales como corticoides y antagonistas de citoquinas a los pacientes. Sin embargo, estos agentes inmunosupresores generales pueden provocar efectos secundarios no deseados que incluyen toxicidad y reducción de la resistencia a la infección. Por lo tanto, se necesitan algunos métodos alternativos, y quizá más específicos para tratar la autoinmunidad.

Se ha demostrado que varias terapias moduladas del sistema inmunitario, incluyendo terapias con anticuerpo, son satisfactorias en el tratamiento de ciertos cánceres y trastornos autoinmunitarios. Sin embargo, existe una necesidad clínica de terapias con anticuerpo adicionales para el tratamiento de tanto de cáncer como de trastornos autoinmunitarios. Además, existe una necesidad relacionada de anticuerpos monoclonales de ser humano/ratón humanizados otros monoclonales anticuerpos quiméricos. En estudios bien publicitados, algunos pacientes a los que se les administraron anticuerpos monoclonales anti-TNF (factor de necrosis tumoral) de murino desarrollaron respuestas a anticuerpo anti-murino con respecto al anticuerpo administrado. (Exley A. R., *et al.*, Lancet 335: 1275-1277 (1990)). Este tipo de respuesta inmunitaria al régimen de tratamiento, normalmente denominada respuesta a

anticuerpo anti-ratón humano (HAMA) (Mirick *et al.*, Q J Nucl Med Mol Imaging 2004; 48: 251-7), disminuye la eficacia del tratamiento e incluso puede hacer que el tratamiento sea completamente ineficaz. Se ha mostrado que algunos anticuerpos monoclonales del ser humano/ratón humanizados o quiméricos disminuyen de forma significativa la respuesta a HAMA y aumentan la eficacia terapéutica de tratamientos con anticuerpo. Véase, por ejemplo, LoBuglio *et al.*, P.N.A.S. 86: 4220-4224 (junio de 1989). Además, algunos anticuerpos en los que algunas funcionalidad es en particular se ven aumentadas reducidas pueden encontrar aplicaciones útiles en el entorno clínico.

Kretz-Rommel *et al.*, (Journal of Immunotherapy, noviembre de 2004, Volumen 27, edición 6 - página S46) desvela que CD200 está sobreexpresado en un subconjunto de leucemias linfocíticas crónicas y desempeña un papel en la regulación negativa de la respuesta inmunitaria de TH1.

El documento US 2005/129690 A1 desvela un método para tratar cáncer usando una terapia que: 1) interfiere con la interacción entre CD200 y su receptor para bloquear la supresión inmunitaria estimulando de ese modo la erradicación de las células cancerosas; y 2) elimina directamente las células cancerosas ya sea mediante a) citotoxicidad celular mediada por complemento o dependiente de anticuerpo o b) mediante la dirección de células usando una molécula de fusión que incluye una parte de dirección a CD200.

El documento US 2002/168364 A1 desvela que la administración de anticuerpos a CD200 inhibía la supervivencia del injerto observada por lo general después de la inmunización venosa portal previo al trasplante. También se desvela que CD200 es responsable de la estimulación de metástasis tumorales y la inhibición de CD200 reduce el crecimiento de células tumorales.

#### Sumario

La presente divulgación se refiere a agentes y métodos para modular la función de CD200. Algunos agentes que modulan la función de CD200 incluyen agente se modula en la actividad y/o expresión de CD200 y/o su receptor (CD200R).

De acuerdo con la presente invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD200, en la que el anticuerpo anti-CD200:

- (i) inhibe la interacción entre CD200 y CD200R; y
- (ii) comprende una región constante Fc variante que:

(a) es una región constante Fc variante en la que las regiones CH1 y bisagra derivan de la IgG2 humana y las regiones CH2 y CH3 derivan de la IgG4 humana;

(b) comprende una o ambas de: (A) una sustitución de fenilalanina por alanina en la posición 234 y (B) una sustitución de leucina por alanina en la posición 235 de acuerdo con el índice EU;

(c) comprende una mutación K322A en el dominio CH2 de acuerdo con el índice EU;

o

(d) carece de una región bisagra.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención se proporciona un anticuerpo anti-CD200 para su uso en el tratamiento de cáncer, en el que el anticuerpo anti-CD200:

- (i) inhibe la interacción entre CD200 y CD200R; y
- (ii) comprende una región constante Fc variante que:

(a) es una región constante Fc variante en la que las regiones CH1 y bisagra derivan de la IgG2 humana y las regiones CH2 y CH3 derivan de la IgG4 humana;

(b) comprende una o ambas de: (A) una sustitución de fenilalanina por alanina en la posición 234 y (B) una sustitución de leucina por alanina en la posición 235 de acuerdo con el índice EU;

(c) comprende una mutación K322A en el dominio CH2 de acuerdo con el índice EU;

o

(d) carece de una región bisagra.

Los anticuerpos, como se denominan en el presente documento, incluyen fragmentos de unión a antígeno, Fab, Fv, scFv, Fab' y F(ab')<sub>2</sub>, anticuerpos monoclonales y policlonales, anticuerpos modificados por ingeniería (incluyendo anticuerpos quiméricos, de una sola cadena, injertados con CDR, humanizados, totalmente humanos, y anticuerpos seleccionados de manera artificial), y anticuerpos sintéticos o semisintéticos.

En ciertos aspectos, la presente divulgación se refiere a anticuerpos anti-CD200 quiméricos, humanizados, humanos y desinmunizados y fragmentos de unión a antígeno de los mismos. En el presente documento se describe un anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al

menos un 90 % a una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las SEQ ID NOS: 7, 9, 11, y 20, o fragmentos de las mismas. Se incluye un anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica o similar en aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % a una secuencia de aminoácidos proporcionada en las SEQ ID NOS: 7, 9, 11, y 20, o fragmentos de las mismas (que incluyen, pero no se limitan a, fragmentos que corresponden a las secuencias sin las secuencias líder). El anticuerpo mencionado puede comprender adicionalmente una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica o similar en al menos aproximadamente 90 % a una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las SEQ ID NOS: 24, 26, 28, y 32, o fragmentos de las mismas. De forma análoga, la secuencia de aminoácidos mencionada anteriormente puede ser idéntica o similar en aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % a una secuencia de aminoácidos proporcionada en las SEQ ID NOS: 24, 26, 28, y 32, incluyendo fragmentos de las mismas (que incluyen, pero no se limitan a, fragmentos que corresponden a las secuencias sin las secuencias líder).

En el presente documento también se describe un anticuerpo anti-CD200 que comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7 y también comprende una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la SEQ ID NO: 24. También están incluidos anticuerpos anti-CD200 que comprenden secuencias de aminoácidos que son idénticas o similares en aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % a una o más secuencias de aminoácidos proporcionadas en las SEQ ID NOS: 7 y 24 o fragmentos de las mismas. Los fragmentos incluyen, pero no se limitan a, secuencias que corresponden a las secuencias que se establecen en las SEQ ID NOS: 7 y 24 sin las secuencias líder. Por consiguiente, en el presente documento se describe un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 6 (incluyendo fragmentos de las mismas y complementos de las mismas) y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 23 (incluyendo fragmentos de las mismas y complementos de las mismas). También está incluido un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga o similar en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 6, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de la misma, y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga o similar en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 23, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de las mismas. En el presente documento también se describen anticuerpos anti-CD200 que comprenden una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga o similar en aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en las SEQ ID NOS: 6 o 23, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de la misma.

En el presente documento también se describe un anticuerpo anti-CD200 que comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y que también comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la SEQ ID NO: 26. En el presente documento también se describen anticuerpos anti-CD200 que comprenden secuencias de aminoácidos que son idénticas o similares en aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % a una o más secuencias de aminoácidos proporcionadas en las SEQ ID NOS: 9 y 26 o fragmentos de las mismas. Los fragmentos incluyen, pero no se limitan a, secuencias que corresponden a las secuencias que se establecen en las SEQ ID NOS: 9 y 26 sin las secuencias líder. Por consiguiente, en el presente documento se describe un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 8 (incluyendo fragmentos de la misma y complementos de la misma) y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 25 (incluyendo fragmentos de la misma y complementos de la misma). También está incluido un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga o similar en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 8, que incluye fragmentos de la misma y complementos de la misma, y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga o similar en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 25, que incluye fragmentos de la misma y complementos de la misma. En el presente documento también se describen anticuerpos anti-CD200 que comprenden una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga o similar en aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en las SEQ ID NOS: 8 o 25, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de las mismas.

En el presente documento también se describe un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11 y que también comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un

90 % a la SEQ ID NO: 26. También están incluidos anticuerpos anti-CD200 que comprenden secuencias de aminoácidos que son idénticas o similares en aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % a una o más secuencias de aminoácidos proporcionadas en las SEQ ID NOS: 11 y 26 o fragmentos de las mismas. Los fragmentos incluyen, pero no se limitan a, secuencias que corresponden a las secuencias que se establecen en las SEQ ID NOS: 11 y 26 sin las secuencias líder. Por consiguiente, en el presente documento se describe un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 10 (incluyendo fragmentos de la misma y complementos de la misma) y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 25 (incluyendo fragmentos de la misma y complementos de la misma). También está incluido un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga o similar en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 10, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de la misma, y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga o similar en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 25, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de la misma. En el presente documento también se describen anticuerpos anti-CD200 que comprenden una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga o similar en aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en las SEQ ID NOS: 10 o 25, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de las mismas.

En el presente documento también se describe un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11 y que también comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la SEQ ID NO: 28. También están incluidos anticuerpos anti-CD200 que comprenden secuencias de aminoácidos que son idénticas o similares en aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % a una o más secuencias de aminoácidos proporcionadas en las SEQ ID NOS: 11 y 28 o fragmentos de las mismas. Los fragmentos incluyen, pero no se limitan a, secuencias que corresponden a las secuencias que se establecen en las SEQ ID NOS: 11 y 28 sin las secuencias líder. Por consiguiente, en el presente documento se describe un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 10 (incluyendo fragmentos de las mismas y complementos de las mismas) y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 27 (incluyendo fragmentos de la misma y complementos de la misma). También está incluido un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga o similar en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 10, que incluye fragmentos de la misma y complementos de la misma, y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga o similar en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 27, que incluye fragmentos de la misma y complementos de la misma. En el presente documento también se describen anticuerpos anti-CD200 que comprenden una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga o similar en aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en las SEQ ID NOS: 10 o 27, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de las mismas.

En el presente documento también se describe un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20 y que también comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la SEQ ID NO: 32. También están incluidos anticuerpos anti-CD200 que comprenden secuencias de aminoácidos que son idénticas o similares en aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % a una o más secuencias de aminoácidos proporcionadas en las SEQ ID NOS: 20 y 32 o fragmentos de las mismas. Los fragmentos incluyen, pero no se limitan a, secuencias que corresponden a las secuencias que se establecen en las SEQ ID NOS: 20 y 32 sin las secuencias líder. Por consiguiente, en el presente documento se describe un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 19 (incluyendo fragmentos de la misma y complementos de la misma) y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 31 (incluyendo fragmentos de la misma y complementos de la misma). También está incluido un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga o similar en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 19, que incluye fragmentos de la misma y complementos de la misma, y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga o similar en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 31, que incluye fragmentos de la misma y complementos de la misma.

complementos de la misma. Por lo tanto, están incluidos anticuerpos anti-CD200 que comprenden una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga o similar en aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en las SEQ ID NOS: 19 o 31, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de las mismas.

Los anticuerpos anti-CD200 de acuerdo con la presente invención incluyen anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno con función(s) alterada o no efectora. Están incluidos anticuerpos que comprenden una región constante o Fc alterada con disminución de las funciones efectoras. En el presente documento también se describen anticuerpos con funciones alteradas o no efectoras debido a un aumento o disminución de la afinidad de unión, que pueden surgir de cambios en las regiones variables. Algunas funciones efectoras alteradas incluyen, por ejemplo, un aumento o disminución de la capacidad para unirse a una o más células receptoras de Fc (FcR) o efectoras, aumento o disminución de la citotoxicidad dependiente de antígeno (ADCC), y/o aumento o disminución de la citotoxicidad dependiente de complemento (CDC). Algunos anticuerpos variantes incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos en los que la región constante o región Fc contiene una o más inserciones, deleciones, y/o sustituciones de aminoácidos. La presente invención proporciona anticuerpos variantes que comprenden una región constante en la que las regiones CH1 y bisagra derivan de la IgG2 humana y las regiones CH2 y CH3 derivan de la IgG4 humana. En el presente documento también se describen anticuerpos en los que la región constante o Fc presenta alteración de la glicosilación. Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno mencionados anteriormente (incluyendo anticuerpos de una sola cadena) pueden ser de murino, quiméricos, humanizados, totalmente humanos, o desimmunizados; están incluidos anticuerpos que comprenden armazones de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgA, IgD, o IgE. Además, los anticuerpos mencionados, incluyendo fragmentos y variantes de los mismos, pueden ser anticuerpos de bloqueo o de no bloqueo o fragmentos de los mismos.

La presente invención proporciona anticuerpos anti-CD200 que presentan disminución de la función efectora o ninguna. Los anticuerpos con disminución de la función efectuará o ninguna pueden comprender una región Fc o constante variante o alterada, tal como, por ejemplo, una región constante con una o más sustituciones, inserciones y/o deleciones de aminoácidos, o una región constante con uno o más cambios en la glicosilación. Una región constante variante incluye, por ejemplo, una región en la que uno o más aminoácidos están sustituidos con alanina, tal como en la mutación de Ala-Ala descrita en el presente documento, o en la que uno o más grupos de carbohidrato se cambia, añade, o retira. Una alteración en el número y/o posición de los grupos carbohidrato se puede conseguir produciendo el anticuerpo mencionado en tipos de células en particular para las que algunas modificaciones después de la traducción se podrían reducir, estar ausentes o aumentar. En una realización, la función efectora de algunos anticuerpos anti-CD200 se elimina cambiando la región constante de IgG1 por un dominio de fusión de IgG2/4. Se pueden concebir otras formas para eliminar la función efectora tales como, por ejemplo, mutación de los sitios conocidos porque interactúan con una FcR o inserción de un Péptido en la región bisagra, eliminando de ese modo sitios fundamentales requeridos para una interacción de FcR.

En el presente documento se describen anticuerpos anti-CD200 con alteración de las funciones efectora son ninguna función efectora que comprenden anticuerpos anti-CD200 con una o más sustituciones, inserciones y/o deleciones de aminoácidos. En determinadas realizaciones, un anticuerpo anti-CD200 variante de este tipo presenta reducción de la función efectora o ninguna. La región constante variante (de dicho anticuerpo variante) puede poseer una homología de al menos aproximadamente un 70 % con la región constante o Fc de la secuencia nativa y/o con una región constante o Fc del anticuerpo precursor o fragmento del mismo; la región constante o Fc variante también puede poseer una homología o similitud de al menos aproximadamente un 80 % con la misma; o una homología o similitud de al menos aproximadamente un 90 % con la misma o una homología o similitud de al menos aproximadamente un 95 % con la misma. Un anticuerpo variante puede comprender una construcción de G2/G4. Por consiguiente, en el presente documento se describe una región constante o Fc de un anticuerpo anti-CD200 con reducción de la función efectora o ninguna, en la que dicha región constante comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NOS: 13, 15, 18, 22, y fragmentos de las mismas. También se describen regiones constantes variantes de un anticuerpo anti-CD200 en las que un anticuerpo comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica o similar en al menos aproximadamente 90 % a una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las SEQ ID NOS: 13, 15, 18, 22, y fragmentos de las mismas. También se describen anticuerpos que comprenden a una secuencia de aminoácidos que es idéntica o similar en aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % a una secuencia de aminoácidos proporcionada en las SEQ ID NOS: 13, 15, 18, 22, y fragmentos de las mismas. Los fragmentos incluyen, pero no se limitan a, secuencias sin las secuencias líder. Además, se describe una región constante de un anticuerpo anti-CD200 con reducción de la función efectora o ninguna y que comprende la construcción de G2/G4 que está codificada por una secuencia de ácidos nucleicos seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NOS: 12, 14, 16, 17, y 21, o fragmentos de las mismas y complementos de las mismas. En el presente documento también se describe un anticuerpo anti-CD200 con reducción de la función efectora o ninguna que está codificado por un ácido nucleico que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que es homólogo o similar en al menos aproximadamente 80 % a una secuencia seleccionada entre las SEQ ID NOS: 12, 14, 16, 17, y 21, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de las mismas. En el presente documento también se describe un anticuerpo anti-CD200 variante codificado por una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que es homóloga o similar en aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %,

94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % a una secuencia de ácidos nucleicos seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NOS: 12, 14, 16, 17, y 21, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de las mismas. El ácido nucleico que codifica un anticuerpo anti-CD200 variante puede comprender una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con una secuencia de ácidos nucleicos seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NOS: 12, 14, 16, 17, y 21, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de las mismas. Están incluidos fragmentos de unión antígeno y anticuerpos tanto de bloqueo como de no bloqueo o fragmentos de los mismos.

En el presente documento también se describe un anticuerpo anti-CD200 variante que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13 y que también comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la SEQ ID NO: 28. También está incluido un anticuerpo anti-CD200 que comprende una o más secuencias de aminoácidos que son idénticas en aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o un 100 % a una secuencia de aminoácidos proporcionada en las SEQ ID NOS: 13 y 28 o fragmentos de las mismas. Los fragmentos incluyen, pero no se limitan a, secuencias que corresponden a las secuencias que se establecen en las SEQ ID NOS: 13 y 28 sin las secuencias líder. Por consiguiente, se describe un anticuerpo anti-CD200 variante que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 12 (incluyendo fragmentos de la misma y complementos de la misma) y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 27 (incluyendo fragmentos de la misma y complementos de la misma). También está incluido un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 12, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de la misma, y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 27, que incluye fragmentos de la misma y complementos de la misma. Por lo tanto, están incluidos anticuerpos anti-CD200 que comprenden una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga en aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o un 100 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en las SEQ ID NOS: 12 o 27, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de la misma.

En el presente documento también se describe un anticuerpo anti-CD200 variante que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15 y que también comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la SEQ ID NO: 24. También está incluido un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o un 100 % a una o más secuencias de aminoácidos proporcionadas en las SEQ ID NOS: 15 y 24 o fragmentos de las mismas. Los fragmentos incluyen, pero no se limitan a, secuencias que corresponden a la secuencias que se establecen en las SEQ ID NOS: 15 y 24 sin las secuencias líder (por ejemplo, el fragmento de la SEQ ID NO: 15 que comienza en el aminoácido 20 o 21). Por consiguiente, se describe un anticuerpo anti-CD200 variante que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 14 (incluyendo fragmentos de la misma y complementos de la misma) y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 23 (incluyendo fragmentos de la misma y complementos de la misma). También está incluido un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 14, que incluye fragmentos de la misma y complementos de la misma, y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 23, que incluye fragmentos de la misma y complementos de la misma. Por lo tanto, están incluidos anticuerpos anti-CD200 que comprenden una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga en aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o un 100 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en las SEQ ID NOS: 14 o 23, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de las mismas.

En el presente documento también se describe un anticuerpo anti-CD200 variante que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13 y que también comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos un 90 % a la SEQ ID NO: 28. También está incluido un anticuerpo anti-CD200 que comprende una o más secuencias de aminoácidos que son idénticas en aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o un 100 % a una secuencia de aminoácidos proporcionada en las SEQ ID NOS: 13 y 28 o fragmentos de las mismas. Los fragmentos incluyen, pero no se limitan a, secuencias que corresponden a las secuencias que se establecen en las SEQ ID NOS: 13 y 28 sin las secuencias líder. Por consiguiente, se describe un anticuerpo anti-CD200 variante que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en

condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 16 (incluyendo fragmentos de la misma y complementos de la misma) y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 27 (incluyendo fragmentos de la misma y complementos de la misma). También está incluido un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 16, que incluye fragmentos de la misma y complementos de la misma, y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 27, que incluye fragmentos de la misma y complementos de la misma. Por lo tanto, están incluidos anticuerpos anti-CD200 que comprenden una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga en aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o un 100 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en las SEQ ID NOS: 16 o 27, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de las mismas.

En el presente documento también se describe un anticuerpo anti-CD200 variante que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18 y que también comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la SEQ ID NO: 30. También está incluido un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o un 100 % a una secuencia de aminoácidos proporcionada en las SEQ ID NOS: 18 y 30 o fragmentos de las mismas. Por consiguiente, se describe un anticuerpo anti-CD200 variante que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 17 (incluyendo fragmentos de la misma y complementos de la misma) y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 29 (incluyendo fragmentos de las mismas y complementos de las mismas). También está incluido un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 17, que incluye fragmentos de la misma y complementos de la misma, y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga en al menos un 80 % con una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 29, que incluye fragmentos de la misma y complementos de la misma. Por lo tanto, están incluidos anticuerpos anti-CD200 que comprenden una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga en aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o un 100 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en las SEQ ID NOS: 17 o 29, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de las mismas.

En el presente documento también se describe un anticuerpo anti-CD200 variante que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y que también comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente un 90 % a la SEQ ID NO: 34. También está incluido un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o un 100 % a una secuencia de aminoácidos proporcionada en las SEQ ID NOS: 22 y 34 o fragmentos de las mismas. Por consiguiente, se describe un anticuerpo anti-CD200 variante que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 21 (incluyendo fragmentos de las mismas y complementos de las mismas) y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 33 (incluyendo fragmentos de la misma y complementos de la misma). También está incluido un anticuerpo anti-CD200 que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 21, que incluye fragmentos de la misma y complementos de la misma, y que también comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga en al menos aproximadamente un 80 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en la SEQ ID NO: 33, que incluye fragmentos de la misma y complementos de la misma. Por lo tanto, están incluidos anticuerpos anti-CD200 que comprenden una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que es homóloga en aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o un 100 % a una secuencia de ácidos nucleicos proporcionada en las SEQ ID NOS: 21 y 33, que incluye fragmentos de las mismas y complementos de las mismas.

Algunos anticuerpos anti-CD200 con alteración de la función efectora también pueden presentar un aumento de la función efectora. Algunos aumentos de funciones efectoras incluyen, pero no se limitan a, aumento de la unión a uno o más receptores de Fc, aumento de la capacidad para provocar ADCC, y/o aumento de la capacidad para provocar CDC. Algunos anticuerpos anti-CD200 con aumento de la función efectora también pueden comprender una región Fc o constante variante como se describe en el presente documento. Los anticuerpos anti-CD200 mencionados

anteriormente con alteración de las funciones afectadas pueden ser adicionalmente anticuerpos de bloqueo o de no bloqueo. Por ejemplo, un anticuerpo anti-CD200 con aumento de la función efectora se puede unir a CD200 pero puede no bloquear la interacción de CD200:CD200R. Un anticuerpo de este tipo puede ser útil cuando se dirige una función efectora (por ejemplo, ADCC o CDC) a una célula que expresa CD200. Como se ha mencionado anteriormente, los anticuerpos que se describen en el presente documento, incluyendo los anticuerpos anti-CD200 mencionados anteriormente con alteración de la función(s) efectora, incluyen anticuerpos de murino, quiméricos, humanizados, totalmente humanos y desinmunizados, todos en sus formas de bloqueo y de no bloqueo, y fragmentos de las mismas.

También se describen métodos y composiciones para modular o reducir células positivas para CD200. Las células positivas para CD200 se pueden modular o reducir mediante la administración a un sujeto de un antagonista de CD200.

Las células positivas para CD200 están relacionadas con ciertos tipos de cánceres y ciertas enfermedades autoinmunitarias. Por consiguiente, las células positivas para CD200 incluyen, pero no se limitan a, células inmunitarias (tales como, por ejemplo, linfocitos B y linfocitos T) y células cancerosas (tales como, por ejemplo, células cancerosas de cánceres de células de ovario, piel, pulmón, renal, mama, próstata, neuroblastoma, linfoma, mieloma, leucemia, tiroides y plasmáticas). También están incluidas células cancerosas de cualquier tejido u órgano derivado de células de la cresta neuronal. Por lo tanto con el sujeto con necesidad de un método para modular o reducir células positivas para CD200 puede ser un paciente con cáncer o enfermedad autoinmunitaria, o un paciente que ha recibido o que se espera que reciba un trasplante de órgano.

En el presente documento se describen métodos y composiciones para tratar enfermedades autoinmunitarias. Las enfermedades autoinmunitarias que se pueden tratar con los métodos y composiciones proporcionados en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino (incluyendo colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), lupus sistémico eritematoso, esclerosis múltiple, tiroiditis de Hashimoto, anemia perniciosa, enfermedad de Addison, diabetes del tipo I, dermatomiositis, síndrome de Sjogren, lupus eritematoso, miastenia gravis, síndrome de Reiter, enfermedad de Grave, psoriasis, y enfermedades hemolíticas autoinmunitarias. En algunas realizaciones, a un paciente con una enfermedad autoinmunitaria se le proporciona un antagonista para CD200, y en ciertas realizaciones, el antagonista es un anticuerpo anti-CD200. El anticuerpo anti-CD200 puede comprender una región constante variante como se describe en el presente documento. Por consiguiente, el anticuerpo anti-CD200 puede presentar alteración de la función(s) efectora, tal como, por ejemplo, aumento de la función(s) efectora. El anticuerpo mencionado puede presentar, por ejemplo, aumento de la unión a uno o más receptores de Fc. Además, el anticuerpo mencionado puede provocar un aumento de ADCC y/o CDC. El anticuerpo mencionado puede ser adicionalmente cualquiera de un anticuerpo de bloqueo o de no bloqueo o un fragmento del mismo y puede ser cualquiera de un anticuerpo murino, quimérico, humanizado, totalmente humano o desinmunizado un fragmento del mismo.

Los cánceres para los que se pueden usar los métodos desvelados incluyen, pero no se limitan a, melanoma, cáncer de ovario, cáncer renal, neuroblastoma, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de próstata, linfoma, mieloma, leucemia, y cáncer de células plasmáticas. También están incluidos algunos cánceres derivados de células de la cresta neuronal y cualquier cáncer que exprese CD200. En determinadas realizaciones, la presente divulgación proporciona un método para tratar trastornos malignos hematológicos, tales como, por ejemplo, leucemias, incluyendo, leucemia linfocítica crónica.

En el presente documento se describe una terapia para cáncer de acuerdo con la presente divulgación que comprende (1) administrar un anticuerpo anti-CD200 o antagonista que interfiera con la interacción entre CD200 and su receptor para bloquear la supresión inmunitaria, estimulando de ese modo la erradicación de las células cancerosas; y/o (2) administrar una molécula de fusión que incluye una parte de dirección a CD-200 para eliminar directamente las células cancerosas. Como alternativa, el anticuerpo elimina directamente las células cancerosas a través de citotoxicidad celular mediada por complemento y/o dependiente de anticuerpo. La función efectora del anticuerpo anti-CD200 se puede alterar. De acuerdo con la presente invención, el anticuerpo anti-CD200 puede contener una región constante variante o alterada para la que la función efectora se disminuye o se elimina; un anticuerpo de este tipo puede ser útil para los métodos que se han descrito anteriormente en (1) y (2), por ejemplo.

En el presente documento se describen moléculas de fusión en las que un anticuerpo anti-CD200 o fragmento de unión antígeno se une a una segunda molécula. La molécula de fusión mencionada puede comprender, por ejemplo, una molécula pequeña, polipéptido, peptidomimético, polipéptido heterocíclico, un agente quimioterapéutico, un agente inmunomodulador, un resto de dirección, o una construcción de ácido nucleico (por ejemplo, construcción antisentido, ARNi, o de dirección genética). La divulgación también incluye fragmentos de unión de antígeno a CD200 en la que el fragmento se fusiona o de otro modo se une a un polipéptido, dominio de proteína, proteína en suero, albúmina, PEG (polietilenglicol), o cualquier otra molécula que aumentara la semivida del fragmento mencionado *in vivo*. Los fragmentos de unión antígeno mencionados incluyen Fab, Fv, fragmentos de una sola cadena o scFv, Fab', y F(ab')<sub>2</sub>, por ejemplo.

En el presente documento también se describen métodos que usan anticuerpos anti-CD200 para determinar el estado de expresión de CD200 de una muestra de célula o tejido obtenida de un paciente. Algunos métodos de este tipo incluyen, pero no se limitan a, tinción inmunohistoquímica de muestras de tejido y análisis de citometría de flujo de células teñidas con CD200 de un paciente. El paciente puede ser un paciente con cáncer, por ejemplo.

De acuerdo con los métodos y composiciones descritos en el presente documento, la divulgación también se refiere a métodos para tratar a un paciente de trasplante o aloinjerto. Un anticuerpo anti-CD200 u otro antagonista de CD200 de la presente divulgación se pueden administrar a un paciente antes de un procedimiento de trasplante o aloinjerto o después del procedimiento para disminuir o eliminar células inmunitarias positivas para CD200 que podrían reducir la aceptación del paciente del órgano o tejido trasplantado. Un anticuerpo anti-CD200 con aumento de la función efectora se puede proporcionar a un paciente de trasplante.

En el presente documento se describen métodos para terapias de combinación que comprenden terapia anti-CD200. Por ejemplo, a un paciente que recibe una primera terapia que comprende un antagonista de CD200 (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD200 descrito en el presente documento) también se puede proporcionar una segunda terapia. El antagonista de CD200 se puede proporcionar de forma simultánea con la segunda terapia. Como alternativa, el antagonista de CD200 se puede proporcionar antes o después de la segunda terapia. Algunas segundas terapias incluyen, pero no se limitan a, agentes quimioterapéuticos, radioterapia, vacunas, antibióticos, agentes antivirales y terapias inmunomoduladoras.

En el presente documento también se describen métodos para controlar la evolución de un tratamiento terapéutico. El método implica la administración de una terapia (por ejemplo, una terapia inmunomoduladora, una terapia quimioterapéutica, etc.) y determinar los niveles de CD200 en un sujeto, al menos dos veces, para determinar la eficacia de la terapia. Otros métodos para determinar la eficacia de una terapia incluyen, pero no se limitan a, detección de células cancerosas, recuento linfocitario total, tamaño del bazo, hígado, y/o ganglios linfáticos, número de linfocitos T reguladores, perfiles de citoquina intracelular o en suero, o secreción de citoquinas por linfocitos T o B tal como se mide con ELISPOT - un sistema de ensayo que permite la detección de citoquinas u otras moléculas secretadas en una base por célula.

De acuerdo con las composiciones y métodos establecidos en el presente documento también se describe cualquier composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-CD200. Están incluidos anticuerpos anti-CD200 quiméricos, humanizados, humanos y desinmunizados y fragmentos de unión al antígeno, incluyendo anticuerpos de una sola cadena. También están incluidos anticuerpos anti-CD200 variantes de murino, quiméricos, humanizados, humanos y desinmunizados y fragmentos de unión a antígeno con alteración de la función(s) efectora como se describe en el presente documento. Los anticuerpos y anticuerpos variantes mencionados anteriormente pueden ser cualquiera de anticuerpos de bloqueo o de no bloqueo o fragmentos de unión a antígeno.

Los pacientes para los que es útil una terapia anti-CD200, o los pacientes que esperan recibir una terapia que comprende una terapia con antagonista de CD200 (incluyendo, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD200), se pueden identificar sistemáticamente para ciertos tratamientos y procedimientos recibidos previamente o para el estado médico actual. Por ejemplo, se puede hacer una identificación sistemática previa de las pacientes hembra para embarazo y acuerdo de anticoncepción, dado que CD200 desempeña un papel importante en la protección frente al aborto. Por consiguiente, los pacientes que reciben una terapia de este tipo pueden estar de acuerdo con la práctica de uno o más métodos anticonceptivos. El paciente mencionado puede estar de acuerdo en el uso de uno o más métodos anticonceptivos durante un periodo de tiempo designado para comenzar la terapia mencionada y/o para la duración de la terapia mencionada. Las pacientes hembra pueden recibir consejo en referencia a los riesgos con respecto a la exposición del feto o a una terapia anti-CD200 de este tipo. Se puede esperar que tales pacientes firmen formularios de consentimiento informado antes de un tratamiento de este tipo. Los médicos que aconsejan a los pacientes con respecto a una terapia anti-CD200 pueden requerir que tales pacientes usen dispositivos o formulaciones anticonceptivos antes de la administración de la terapia con anti-CD200 (véase, por ejemplo, el documento de patente US 6.908.432 y patentes relacionadas). Se puede hacer una identificación sistemática de los pacientes para identificar pacientes que han recibido previamente cirugía cerebral y/o radioterapia en el cerebro; la terapia anti-CD200 no se podría prescribir a pacientes de este tipo.

#### Breve descripción de las figuras

La Figura 1 proporciona la secuencia de ácidos nucleicos para el cebador C7mhHF (SEQ ID NO: 1) usado en la generación de la construcción de G2/G4.

La Figura 2 proporciona la secuencia de ácidos nucleicos para el cebador Rev Age Pri (SEQ ID NO: 2) usado en la generación de la construcción de G2/G4.

La Figura 3 proporciona la secuencia de ácidos nucleicos para el cebador C2aB7 rev (SEQ ID NO: 3) usado en la generación de la construcción de G2/G4.

La Figura 4 proporciona la secuencia de ácidos nucleicos para el cebador lacpri (SEQ ID NO: 4) usado en la generación de la construcción de G2/G4.

La Figura 5 proporciona la secuencia de ácidos nucleicos para LeadVHpAX (SEQ ID NO: 5).

Las Figuras 6A-F representan las secuencias de aminoácidos y secuencias de nucleótidos para las cadenas pesada y ligera del anticuerpo chC2aB7-hG1 (SEQ ID NOS: 6, 7, 23, 24, 37, y 38). La Figura 6C muestra la SEQ ID NO: 37 (secuencia de ácidos nucleicos) y la SEQ ID NO: 7 (secuencia de aminoácidos). La SEQ ID NO: 7 como se muestra en el esquema es contigua pero se representa con una secuencia de nucleótidos correspondiente que incluye intrones. La Figura 6F muestra la SEQ ID NO: 38 (secuencia de ácidos nucleicos) y la SEQ ID NO: 24 (secuencia de aminoácidos).

Las Figuras 7A-F representan las secuencias de aminoácidos y secuencias de nucleótidos para las cadenas pesada y ligera del anticuerpo hB7V4V1-hG1 (SEQ ID NOS: 8, 9, 25, 26, 39, y 40). La Figura 7C muestra la SEQ ID NO: 39 (secuencia de ácidos nucleicos) y la SEQ ID NO: 9 (secuencia de aminoácidos). La Figura 7F muestra la SEQ ID NO: 40 (secuencia de ácidos nucleicos) y la SEQ ID NO: 26 (secuencia de aminoácidos).

Las Figuras 8A-F representan las secuencias de aminoácidos y secuencias de nucleótidos para las cadenas pesada y ligera del anticuerpo hB7V3V1-hG1 (SEQ ID NOS: 10, 11, 25, 26, 40, y 41). La Figura 8C muestra la SEQ ID NO: 41 (secuencia de ácidos nucleicos) y la SEQ ID NO: 11 (secuencia de aminoácidos). La Figura 8F muestra la SEQ ID NO: 41 (secuencia de ácidos nucleicos) y la SEQ ID NO: 26 (secuencia de aminoácidos).

Las Figuras 9A-F representan las secuencias de aminoácidos y secuencias de nucleótidos para las cadenas pesada y ligera del anticuerpo hB7V3V2-hG1 (SEQ ID NOS: 10, 11, 27, 28, 41, y 42). La Figura 9C muestra la SEQ ID NO: 41 (secuencia de ácidos nucleicos) y la SEQ ID NO: 11 (secuencia de aminoácidos). La Figura 9F muestra la SEQ ID NO: 42 (secuencia de ácidos nucleicos) y la SEQ ID NO: 28 (secuencia de aminoácidos).

Las Figuras 10A-F representan las secuencias de aminoácidos y secuencias de nucleótidos para las cadenas pesada y ligera del anticuerpo hB7V3V2-hG2G4 (SEQ ID NOS: 12, 13, 27, 28, 42, y 43). La Figura 10C muestra la SEQ ID NO: 43 (secuencia de ácidos nucleicos) y la SEQ ID NO: 13 (secuencia de aminoácidos). La SEQ ID NO: 13 como se muestra en el esquema es contigua pero se representa con una secuencia de nucleótidos correspondiente que incluye intrones. La Figura 10F muestra la SEQ ID NO: 42 (secuencia de ácidos nucleicos) y la SEQ ID NO: 28 (secuencia de aminoácidos).

Las Figuras 11A-F representan las secuencias de aminoácidos y secuencias de nucleótidos para las cadenas pesada y ligera del anticuerpo chC2aB7-hG2G4 (SEQ ID NOS: 14, 15, 23, 24, 44, 45, 46, y 47). La Figura 11C muestra la SEQ ID NO: 44 (secuencia de ácidos nucleicos) y la SEQ ID NO: 45 (secuencia de aminoácidos). La SEQ ID NO: 45 corresponde a los aminoácidos 1-337 de la SEQ ID NO: 15. Como se muestra en el esquema, la SEQ ID NO: 45 es contigua pero se representa con una secuencia de nucleótidos correspondiente que incluye intrones. La Figura 11F muestra la SEQ ID NO: 46 (secuencia de ácidos nucleicos) y la SEQ ID NO: 47 (secuencia de aminoácidos).

Las Figuras 12A-F representan las secuencias de aminoácidos y secuencias de nucleótidos para las cadenas pesada y ligera del anticuerpo hB7V3V2-cG2G4 (SEQ ID NOS: 13, 16, 27, 28, 48, y 49). La Figura 12C muestra la SEQ ID NO: 48 (secuencia de ácidos nucleicos) y la SEQ ID NO: 13 (secuencia de aminoácidos). La Figura 12F muestra la SEQ ID NO: 49 (secuencia de ácidos nucleicos) y la SEQ ID NO: 28 (secuencia de aminoácidos).

Las Figuras 13A-D representan las secuencias de aminoácidos y secuencias de nucleótidos para las cadenas pesada y ligera del anticuerpo chC7-hG2G4 (SEQ ID NOS: 17, 18, 29, y 30).

Las Figuras 14A-F representan las secuencias de aminoácidos y secuencias de nucleótidos para las cadenas pesada y ligera del anticuerpo D1B5-hG1 (SEQ ID NOS: 19, 20, 31, 32, 50, y 51). La Figura 14C muestra la SEQ ID NO: 50 (secuencia de ácidos nucleicos) y la SEQ ID NO: 20 (secuencia de aminoácidos). La SEQ ID NO: 20 como se muestra en el esquema es contigua pero se representa con una secuencia de nucleótidos correspondiente que incluye intrones. La Figura 14F muestra la SEQ ID NO: 51 (secuencia de ácidos nucleicos) y la SEQ ID NO: 32 (secuencia de aminoácidos).

Las Figuras 15A-D representan las secuencias de aminoácidos y secuencias de nucleótidos para las cadenas pesada y ligera del anticuerpo G2G4 63L1D (SEQ ID NOS: 21, 22, 33, y 34).

La Figura 16 proporciona la secuencia de ácidos nucleicos para el cebador directo para clonación de ADNc de CD200 (SEQ ID NO: 35).

La Figura 17 proporciona la secuencia de ácidos nucleicos para el cebador inverso para clonación de ADNc de CD200 (SEQ ID NO: 36).

La Figura 18 muestra los efectos de la administración de anticuerpos CD200 humanizados en el modelo RAJI-CD200/PBL. Los anticuerpos anti-CD200 humanizados dieron como resultado una inhibición del crecimiento tumoral. La Figura 19 demuestran los efectos de la administración de anticuerpos CD200 humanizados con y sin función efectora en el modelo animal Namalwa\_CD200. Los anticuerpos sin función efectora presentaban eficacia en la inhibición del crecimiento tumoral.

La Figura 20 es una tabla que muestra el nivel de expresión de CD200 en muestras de pacientes con leucemia linfocítica crónica (CLL) en comparación con muestras normales.

La Figura 21 representa los niveles relativos de expresión de CD200 detectados en líneas de células cancerosas.

La Figura 22 muestra el nivel de expresión de antígeno de CD200 en muestras de cáncer de ovario humano con respecto al nivel de expresión detectado en linfocitos de sangre periférica humana (PBL).

La Figura 23 muestra el nivel de expresión de antígeno de CD200 en muestras de pacientes con melanoma humano con respecto al nivel de expresión detectado en PBL.

La Figura 24 muestra tinción inmunohistoquímica de CD200 de muestras de paciente con melanoma.

La Figura 25 demuestra los efectos del anticuerpo anti-CD200 en la producción de citoquinas. Los niveles de producción de IL-2 en ensayos de población de células mixtas se midieron en ausencia y presencia de anticuerpo CD200. El anticuerpo usado es un anticuerpo anti-CD200 quimérico sin función efectora.

La Figura 26 muestra los efectos de la administración de anticuerpos anti-CD200, con o sin función efectora, en el modelo Namalwa/PBL en el que los tumores no expresan CD200.

La Figura 27 muestra análisis de citometría de flujo de expresión de CD200 en linfocitos T activados. Los linfocitos CD3+ se activaron con mOKT3, se cosecharon, se lavaron y se sometieron a tinción con los anticuerpos conjugados indicados específicos para CD25, CD200, CD5, CD4 y CD8 humanos. Las células se lavaron y se analizaron para inmunofluorescencia en un citómetro de flujo FACS Caliber usando el software CellQuest.

La Figura 28 demuestran los efectos de anticuerpos anti-CD200 en ADCC de linfocitos T activados. Los linfocitos T CD3+ humanos se estimularon con 10 µg/ml de mOKT3 inmovilizado (revestidos en placa) durante 72 h. A continuación, los linfocitos T se cromaron para su uso como dianas y se incubaron con linfocitos CD56+ (NK) autólogos purificados como células receptoras. Las células se coincubaron durante 4 horas a 37 °C en proporciones de célula efectora:diana a 25:1 (A) o 10:1 (B) en presencia o ausencia de un anticuerpo anti-CD200 humanizado capaz de mediar la función efectora (V3V2-G1) o modificado por ingeniería para carecer de función efectora (V3V2-G2G4). Los datos se representan como porcentaje de lisis específica. El anticuerpo anti-CD200 aumentó la ADCC de linfocitos T activados, mientras que el anticuerpo anti-CD200 sin función efectora fracasaba al inducir la ADCC.

La Figura 29 es una tabla que muestra el nivel de expresión de CD200 en células plasmáticas.

Descripción detallada de realizaciones preferentes

## I. ANTAGONISTAS DE CD200

CD200 es una glicoproteína transmembrana de tipo I altamente conservada expresada en diversos tipos celulares incluyendo células del sistema inmunitario (por ejemplo, linfocitos T, linfocitos B, y células dendríticas (Barclay *et al.*, TRENDS Immunol. 2002: 23)) así como ciertas células cancerosas como se muestra en el presente documento. La proteína interactúa con su receptor CD200R en células mieloides y subpoblaciones de linfocitos T (Wright *et al.*, J. Immunol. 2003 (171): 3034-3046 y Wright *et al.*, Immunity 2000 (13): 233-242); la interacción de CD200:CD200R proporciona una señal inmunomoduladora a células e induce inmunosupresión incluyendo tolerancia inmunitaria asociada con apoptosis (Rosenblum *et al.*, 2004 Blood (103): 2691-2698). Por lo tanto, los agentes que interfieren con la función o actividad de CD200 y/o su receptor pueden inhibir o revertir los efectos inmunosupresores de la interacción de CD200:CD200R. Además, algunos agentes que se unen de forma específica a CD200 (pero que pueden inhibir o no la interacción de CD200:CD200R) pueden desencadenar sucesos cadena abajo que revierten o anulan los efectos de CD200.

En el presente documento se describen antagonistas de CD200. Como se usa en el presente documento, el término antagonista incluye cualquier agente que es capaz de inhibir la actividad, función y/o la expresión de CD200 o su receptor. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, polipéptidos, anticuerpos, moléculas pequeñas, aptámeros, espejémeros, inhibidores de ácido nucleico bloqueados (LNA), inhibidores de ácido nucleico peptídicos (PNA), construcciones de ácido nucleico (por ejemplo, construcciones de dirección genética, construcciones antisentido, construcciones de ARN de interferencia (ARNi), etc.) y peptidomiméticos. De acuerdo con la presente invención el antagonista es un anticuerpo. De acuerdo con la presente invención el antagonista interrumpe la interacción de CD200 y CD200R. Los antagonistas de CD200 pueden ser capaces de disminuir los efectos inmunosupresores de CD200 o son capaces de dirigir las células que expresan CD200 para disminución o eliminación.

Los antagonistas de CD200 pueden ser polipéptidos. Se pueden hacer construcciones de algunos polipéptidos usando diferentes técnicas que son conocidas por los expertos en la materia. Los polipéptidos se pueden obtener mediante síntesis química. Los polipéptidos pueden ser construcciones de anticuerpo a partir de un fragmento o varios fragmentos de uno o más anticuerpos. El polipéptido puede ser un anticuerpo anti-CD200 como se describe en el presente documento.

Los antagonistas de CD200 descritos en el presente documento pueden ser anticuerpos anti-CD200. Como se usa en el presente documento, el término "anticuerpos" se refiere a anticuerpos completos o fragmentos de anticuerpo capaces de unirse a CD200 o CD200R. Están incluidos Fab, Fv, scFv, Fab' y F(ab')<sub>2</sub>, anticuerpos monoclonales y policlonales, anticuerpos modificados por ingeniería (incluyendo anticuerpos quiméricos, de una sola cadena, injertados con CDR, humanizados, totalmente humanos, y anticuerpos seleccionados de manera artificial), y anticuerpos sintéticos o semisintéticos producidos usando técnicas de presentación de fagos o técnicas alternativas. También están incluidos anticuerpos modificados por ingeniería o producidos en formas para contener regiones variantes o constantes alteradas o Fc con aumento o disminución de la capacidad para unirse a una o más células efectoras; tales anticuerpos variantes incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos en los que la región constante o Fc contiene alteración de los patrones de glicosilación. Algunos fragmentos pequeños, tales como Fv y scFv, poseen propiedades ventajosas para aplicaciones de diagnóstico y terapéuticas teniendo en cuenta su tamaño pequeño y consiguiente distribución del tejido superior. Los anticuerpos con regiones modificadas por ingeniería o constantes variantes o Fc pueden ser útiles en la modulación de funciones efectoras, tales como, por ejemplo, ADCC y CDC. Los anticuerpos de este tipo con regiones modificadas por ingeniería o constantes variantes o Fc pueden ser útiles en casos en los que CD200 se expresa en tejido normal, por ejemplo; en estos casos, los anticuerpos anti-CD200 variantes sin función efectora pueden provocar la respuesta terapéutica deseada a la vez que no dañan el tejido normal. Además, anticuerpos con anticuerpos variantes, y fragmentos de los mismos pueden ser anticuerpos o fragmentos de anticuerpo de bloqueo (es decir, los anticuerpos o fragmentos mencionados inhiben la interacción de

CD200 y CD200R) o de no bloqueo (es decir, los anticuerpos o fragmentos mencionados se unen a CD200 pero no bloquean su interacción con CD200R).

También se describen anticuerpos anti-CD200 que comprenden cadenas pesadas y ligeras como se proporciona en el presente documento, incluyendo cadenas pesadas y ligeras que son homólogas o similares a las cadenas pesadas y/o ligeras proporcionadas en el presente documento. "Homología" o "identidad" o "similitud" se refieren a similitud de secuencias entre dos péptidos o entre dos moléculas de ácido nucleico. Cada una de homología e identidad se puede determinar por comparación de una posición en cada secuencia que se puede alinear con fines de comparación. Cuando una posición equivalente en las secuencias comparadas está ocupada por la misma base o aminoácido, entonces las moléculas son idénticas en esa posición; cuando el sitio equivalente está ocupado por el mismo resto de aminoácido o uno similar (por ejemplo, de naturaleza estérica y/o electrónica similar), entonces las moléculas se pueden denominar homólogas (similares) en esa posición. La expresión como un porcentaje de homología/similitud o identidad se refiere a una función del número de aminoácidos idénticos o similares en posiciones compartidas por las secuencias comparadas. El término "homología" describe una comparación de similitudes de secuencias con base matemática que se usa para identificar genes o proteínas con funciones o motivos similares. Como se usa en el presente documento, "identidad" se refiere al porcentaje de restos de nucleótidos o aminoácidos idénticos en posiciones correspondientes en dos o más secuencias cuando las secuencias se alinean para maximizar el emparejamiento de secuencias, es decir, teniendo en cuenta huecos e inserciones. Por lo tanto, se diseñan métodos para determinar la identidad para dar el mayor emparejamiento entre las secuencias sometidas a ensayo (véase *Computational Molecular Biology*, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; *Biocomputing: Informatics and Genome Projects*, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993; *Computer Analysis of Sequence Data*, Parte I, Griffin, A. M., y Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; *Sequence Analysis in Molecular Biology*, von Heinje, G., Academic Press, 1987; y *Sequence Analysis Primer*, Gribskov, M. y Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; y Carillo, H., y Lipman, D., SIAM J. Applied Math., 48: 1073 1988, Devereux, J., *et al.*, *Nucleic Acids Research* 12 (1): 387 (1984), BLASTP, BLASTN, FASTA (Altschul, S. F. *et al.*, *J. Molec. Biol.* 215: 403-410 (1990) y Altschul *et al.*, *Nuc. Acids Res.* 25: 3389-3402 (1997)) y BLAST X (BLAST Manual, Altschul, S., *et al.*, NCBI NLM NIH Bethesda, Md. 20894; Altschul, S., *et al.*, *J. Mol. Biol.* 215: 403-410 (1990). Una secuencia que está "sin relacionar" o "no es homóloga" comparte una identidad inferior a un 40 %, aunque preferentemente inferior a un 25 % de identidad con una secuencia de la presente divulgación. Al comparar las dos secuencias, la ausencia de restos (aminoácidos o ácidos nucleicos) o presencia de restos extra también disminuye la identidad y homología/similitud.

En consecuencia, la divulgación se refiere a anticuerpos, como se describe en el presente documento, sin las secuencias líder. Por lo tanto, los anticuerpos de la divulgación pueden comprender cadenas pesadas y ligeras (como se describe en el presente documento) en las que la secuencia líder está ausente o está sustituida con una secuencia líder diferente. Si para producir anticuerpos de la presente divulgación se usan células hospedadoras, las secuencias líder apropiadas se pueden seleccionar por lo tanto de acuerdo con la célula hospedadora usada en particular.

Los anticuerpos se pueden producir con métodos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, los anticuerpos anti-CD200 monoclonales se pueden generar usando células positivas para CD200, polipéptido de CD200, o un fragmento de polipéptido de CD200, como un inmunógeno, aumentando de este modo una respuesta inmunitaria en animales a partir de los que se pueden aislar células que producen anticuerpo y a su vez anticuerpos monoclonales. La secuencia de anticuerpos de este tipo se puede determinar y los anticuerpos o valientes de los mismos se pueden producir con técnicas recombinantes. Algunas técnicas recombinantes se pueden usar para producir anticuerpos quiméricos, injertados con CDR, humanizados y totalmente humanos basándose en la secuencia de los anticuerpos monoclonales así como polipéptidos capaces de unirse a CD200.

Además, algunos anticuerpos derivados de bibliotecas recombinantes ("anticuerpos de fago") se pueden seleccionar usando células positivas para CD200, o polipéptidos derivados de las mismas, como cebo para aislar los anticuerpos o polipéptidos sobre la base de final de especificidad de diana. La producción y aislamiento de anticuerpos anti-CD200 no humanos y quiméricos está bien dentro del alcance del experto en la materia.

La tecnología de ADN recombinante se usa para mejorar los anticuerpos producidos en células no humanas. Por lo tanto, se pueden construir anticuerpos quiméricos para disminuir la inmunogenicidad de los mismos en aplicaciones de diagnóstico o terapéuticas. Además, la inmunogenicidad se puede minimizar humanizando los anticuerpos mediante injerto de CDR y, opcionalmente, modificación del armazón. Véase, el documento de Patente de Estados Unidos n.º 5.225.539.

Los anticuerpos se pueden obtener a partir de suero animal o, en el caso de anticuerpos monoclonales o fragmentos de los mismos, se pueden producir en cultivo celular. Se puede usar tecnología del ADN recombinante para producir los anticuerpos de acuerdo con procedimientos establecidos, incluyendo procedimientos en cultivo de células bacterianas o preferentemente cultivo de células de mamífero. El sistema de cultivo celular seleccionado se secreta preferentemente el producto de anticuerpo.

En el presente documento se describe un proceso para la producción de un anticuerpo desvelado en el presente documento que incluye cultivar una célula hospedadora, por ejemplo una célula de *E. coli* o de mamífero, que se ha transformado con un vector híbrido. El vector incluye uno o más casetes de expresión que contienen un promotor unido de forma operativa a una primera secuencia de ADN que codifica un péptido señal unido en el marco de lectura apropiado a una segunda secuencia de ADN que codifica la proteína del anticuerpo. A continuación, la proteína del anticuerpo se recoge y se aísla. Opcionalmente, el casete de expresión puede incluir a un promotor unido de forma operativa a secuencias de ADN policistrónico, por ejemplo bicistrónico, que codifican proteínas de anticuerpo cada una capaz de unirse de forma operativa a un péptido señal en el marco de lectura apropiado.

La multiplicación de células de hibridoma o células de hospedador mamífero *in vitro* se realiza en medios de cultivo adecuados, que incluyen los medios de cultivo convencionales habituales (tales como, por ejemplo Medio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) o medio RPMI 1640), repuesto opcionalmente con un suero de mamífero (por ejemplo suero bovino fetal), o elementos traza y suplementos de mantenimiento del crecimiento (por ejemplo células alimentadoras tales como células de exudado peritoneal de ratón normal, células de bazo, macrófagos de médula ósea, 2-aminoetanol, insulina, transferrina, y lipoproteína de baja densidad, ácido oleico, o similares). La multiplicación de células hospedadoras que son células bacterianas o células de levadura se realiza del mismo modo en medio de cultivo adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, para bacterias, algunos medios de cultivo adecuados incluyen medio LE, NZCYM, NZYM, NZM, Caldo de cultivo Terrific, SOB, SOC, 2 x YT, o Medio Mínimo M9. Para la levadura, algunos medios de cultivo adecuados incluyen medio YPD, YEPA, Medio Mínimo, o Medio de Abstinencia Mínimo Completo.

La producción *in vitro* proporciona preparaciones de anticuerpos relativamente puras y permite ampliación de la producción para dar grandes cantidades de los anticuerpos deseados. En la técnica se conocen algunas técnicas para células cultivo de bacterianas, levadura, planta, o mamífero e incluyen cultivo en suspensión homogéneo (por ejemplo en un reactor de desplazamiento aéreo o en un reactor de agitación continua), y cultivo de células inmovilizadas o atrapadas (por ejemplo en fibras huecas, microcápsulas, en microperlas de agarosa o cartuchos de cerámica).

También se pueden obtener grandes cantidades de anticuerpos deseados mediante multiplicación de células de mamífero *in vivo*. Para este fin, las células de hibridoma que producen los anticuerpos deseados se inyectan en mamíferos histocompatibles para causar el crecimiento de tumores que producen anticuerpos. Opcionalmente, los animales se ceban con un hidrocarburo, en especial aceites minerales tales como pristano (tetrametil-pentadecano), antes de la inyección. Después de una a tres semanas, los anticuerpos se aíslan a partir de los fluidos corporales de esos mamíferos. Por ejemplo, las células de hibridoma obtenidas por fusión de células de mieloma adecuadas con células de bazo que producen anticuerpos de ratones Balb/c, o células transfectadas derivadas de la línea Sp2/0 de células de hibridoma que produce los anticuerpos deseados se inyecta por vía intraperitoneal en ratones Balb/c tratados previamente de forma opcional con pristano. Después de una a dos semanas, se extrae fluido ascítico de los animales.

Las técnicas mencionadas anteriormente y otras técnicas se discuten por ejemplo, en Kohler y Milstein, (1975) Nature 256: 495-497; documento de patente de Estados Unidos n.º 4.376.110; Harlow y Lane, Antibodies: a Laboratory Manual, (1988) Cold Spring Harbor. Algunas técnicas para la preparación de moléculas de anticuerpo recombinante se describen en las referencias mencionadas anteriormente, y también en, por ejemplo el documento WO97/08320; documento de patente de Estados Unidos n.º 5.427,908; documento de patente de Estados Unidos n.º 5.508,717; Smith, 1985, Science, Vol. 225, pp 1315-1317; Parmley y Smith, 1988, Gene 73, pp 305-318; De La Cruz *et al.*, 1988, Journal of Biological Chemistry, 263 pp 4318-4322; documento de patente de Estados Unidos n.º 5.403.484; documento de patente de Estados Unidos n.º 5.223.409; documento WO88/06630; documento WO92/15679; documento de patente de Estados Unidos n.º 5.780.279; documento de patente de Estados Unidos n.º 5.571.698; documento de patente de Estados Unidos n.º 6.040.136; Davis *et al.*, 1999, Cancer Metastasis Rev., 18 (4): 421-5; Taylor, *et al.*, Nucleic Acids Research 20 (1992): 6287-6295; Tomizuka *et al.*, Proc. Natl. Academy of Sciences USA 97 (2) (2000): 722-727.

Los sobrenadantes del cultivo celular se identifican sistemáticamente para los anticuerpos deseados, preferentemente mediante tinción con inmunofluorescencia de células positivas para CD200, mediante inmunotransferencia, con un inmunoensayo enzimático, por ejemplo un ensayo de sándwich o un ensayo de aplicación puntual, o un radioinmunoensayo.

Para aislamiento de los anticuerpos, las inmunoglobulinas en los sobrenadantes del cultivo o en el fluido ascítico se pueden concentrar, por ejemplo mediante precipitación con sulfato de amonio, diálisis con respecto al material higroscópico tal como polietilenglicol, filtración a través de membranas selectivas o similares. Si fuera necesario y/o si se deseara, los anticuerpos se purifican con los métodos de cromatografía habituales, por ejemplo filtración en gel, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía sobre DEAE-celulosa y/o cromatografía por (inmuno) afinidad, por ejemplo cromatografía por afinidad con uno o más polipéptidos de superficie derivados de una línea de células positivas para CD200, o con Proteína A o G.

En el presente documento también se describe un proceso para la preparación de una línea de células bacterianas que secretan anticuerpos dirigidos frente a CD200 en un mamífero adecuado. Por ejemplo un conejo se inmuniza

con muestras combinadas de tejido o células positivos para CD200 o polipéptidos de CD200 o fragmentos de los mismos. Se construye una biblioteca de presentación de fagos producida a partir de conejo inmunizado y se selecciona para los anticuerpos deseados de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica.

5 También se desvelan algunas células de hibridoma que secretan los anticuerpos monoclonales. Las células de hibridoma preferentes son anticuerpos monoclonales secretados, genéticamente estables descritos en el presente documento de la especificidad deseada, y se pueden activar a partir de cultivos ultracongelados mediante descongelado y nueva clonación.

10 En el presente documento también se describe un proceso para la preparación de una línea de células de hibridoma que secretan anticuerpos monoclonales frente a CD200. En ese proceso, un mamífero adecuado, por ejemplo un ratón Balb/c, se inmuniza con uno o más polipéptidos o fragmentos antigénicos de CD200 o con uno o más polipéptidos o fragmentos antigénicos derivados de una célula positiva para CD200, la propia célula positiva para CD200, o un vehículo antigénico que contienen polipéptido purificado como se ha descrito. Las células que producen anticuerpos del mamífero inmunizado se cultivan brevemente en cultivo o se fusionan con células de una línea de células de mieloma adecuada. Las células híbridas obtenidas en la fusión se clonan, y se seleccionan los clones celulares que secretan los anticuerpos deseados. Por ejemplo, las células de bazo de ratones Balb/c inmunizados con una línea de células de Leucemia Linfocítica Crónica (CLL) positivas para CD200 se fusionan con células de la línea de células de mieloma, PAI, o la línea de células de mieloma Sp2/0-Ag 14. A continuación, las células híbridas obtenidas se identifican sistemáticamente para secreción de los anticuerpos deseados y las células de hibridoma positivas se clonan.

Es preferente un proceso para la preparación de una línea de células de hibridoma, caracterizado por que los ratones Balb/c se inmunizan mediante inyección por vía subcutánea y/o por vía intraperitoneal entre  $10^6$  y  $10^7$  células de una línea de células positivas para CD200 varias veces, por ejemplo de cuatro a seis veces, durante varios meses, por ejemplo entre dos y cuatro meses. Las células de bazo de los ratones inmunizados se toman de dos a cuatro días después de la última inyección y fusionan con células de la línea de células de mieloma, PAI, en presencia de un promotor de fusión, preferentemente polietilenglicol. Preferentemente, las células de mieloma fusionan con un exceso de tres a veinte veces de células de bazo de los ratones inmunizados en una solución que contiene de aproximadamente un 30 % a aproximadamente un 50 % de polietilenglicol de un peso molecular de aproximadamente 4000. Después de la fusión, las células se expanden en medio de cultivo adecuado como se ha descrito anteriormente en el presente documento, se suplementan con un medio de selección, por ejemplo medio HAT, a intervalos regulares para evitar que las células de mieloma normales presentan un crecimiento excesivo con respecto a las células de hibridoma deseadas.

Los anticuerpos y fragmentos de los mismos pueden ser "quiméricos". Los anticuerpos quiméricos un y fragmentos de unión a antígeno de los mismos comprenden partes de dos o más especies diferentes (por ejemplo, ratón y ser humano). Los anticuerpos quiméricos se pueden producir con regiones variables de ratón de especificidad deseada con corte y empalme en segmentos genéticos de dominio constante humano (por ejemplo, documento de patente de Estados Unidos n.º 4.816.567). De este modo, los anticuerpos no humanos se pueden modificar para hacerlos más adecuados para aplicación clínica en seres humanos.

Los anticuerpos monoclonales de la presente divulgación incluyen formas "humanizadas" de los anticuerpos no humanos (es decir, ratón). Los mAb humanizados o injertados con CDR son particularmente útiles como agentes terapéuticos para seres humanos porque no se eliminan de la circulación tan rápidamente como los anticuerpos de ratón y por lo general no provocan una reacción inmunitaria adversa. Por lo general, un anticuerpo humanizado tiene uno o más restos de aminoácidos introducidos en el mismo de una fuente no humana. Estos restos de aminoácidos no humanos a menudo se denominan restos de "importación", que por lo general se toman de un dominio variable de "importación". Por lo general, en la técnica se conoce en bien algunos métodos para preparar anticuerpos humanizados. Por ejemplo, la humanización se puede realizar esencialmente siguiendo el método de Winter y colaboradores (Jones *et al.*, Nature 321: 522-525 (1986); Reichmann *et al.*, Nature, 332: 323-327 (1988); Verheoeyen *et al.*, Science, 239: 1534-1536 (1988)), mediante la sustitución de las CDR o secuencias de CDR de roedor para las correspondientes secuencias de un anticuerpo humano. Véase también Staelens *et al.*, 2006 Mol Immunol 43: 1243-1257. En realizaciones en particular, algunas formas humanizadas de anticuerpos no humanos (por ejemplo, ratón) son anticuerpos humanos (anticuerpo receptor) en las que en algunos restos de región hipervariable (CDR) del anticuerpo receptor intuyen con restos de región hipervariable de una especie no humana (anticuerpo donante) tal como un ratón, rata, conejo, o primate no humano que tengan la especificidad, afinidad y capacidad de unión deseadas. En algunos casos, algunos restos de la región marco conservada de la inmunoglobulina humana también se sustituyen con restos no humanos correspondientes (denominados "retromutaciones"). Además, se pueden usar bibliotecas de presentación de fagos para variar los aminoácidos en posiciones elegidas dentro de la secuencia del anticuerpo. Las propiedades de un anticuerpo humanizado también se ven influidas por la elección del armazón humano. Además, los anticuerpos humanizados y quiméricos se pueden modificar para que comprendan restos que no se encuentran en el anticuerpo receptor o en el anticuerpo donante para mejorar adicionalmente las propiedades del anticuerpo, tales como, por ejemplo, afinidad o función efectora.

65 En la divulgación también se proporcionan anticuerpos totalmente humanos. La expresión "anticuerpo humano" incluye regiones variables y constantes (si estuvieran presentes) derivadas de secuencias de inmunoglobulina de

germinal humana. Los anticuerpos humanos pueden incluir restos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria fue específica del sitio *in vitro* o mediante mutación somática *in vivo*). Sin embargo, la expresión "anticuerpo humano" no incluye anticuerpos en los que las secuencias de CDR derivadas de la línea germinal humana o de otra especie de mamífero, tal como un ratón, se han injertado en las secuencias de armazón humano (es decir, anticuerpos humanizados). Los anticuerpos totalmente humanos o humanos se pueden derivar de ratones transgénicos que portan genes de anticuerpo humano (que portan los exones variables (V), de diversidad (D), de unión (J), y constantes (C)) o de células humanas. Por ejemplo, ahora es posible producir animales transgénicos (por ejemplo, ratones) que son capaces, después de inmunización, de producir un repertorio completo de anticuerpos humanos en ausencia de producción de inmunoglobulina endógena (véase, por ejemplo, Jakobovits *et al.*, PNAS; 90: 2551 (1993); Jakobovits *et al.*, Nature, 362: 255-258 (1993); Bruggermann *et al.*, Year in Immuno., 7: 33 (1993); y Duchosal *et al.*, Nature 355: 258 (1992). La cepa de ratones transgénicos se puede modificar por ingeniería para quien contenga secuencias genéticas de genes de inmunoglobulina humana sin reordenar. Las secuencias humanas pueden codificar las cadenas tanto pesada como ligera de anticuerpos humanos y podrían funcionar de forma correcta en los ratones, que se someten a reordenamiento para proporcionar un amplio repertorio de anticuerpos similar al de los seres humanos. Los ratones transgénicos se pueden inmunizar con la proteína diana (por ejemplo, CD200, fragmentos del mismo, o células que expresan CD200) para crear una matriz diversa de anticuerpos específicos y ARN de codificación. Los ácidos nucleicos que codifican los componentes de la cadena de anticuerpo de tales anticuerpos se pueden clonar a continuación a partir del animal en un vector de presentación. Por lo general, se clonan algunas poblaciones separadas de ácidos nucleicos que codifican secuencias de cadena pesada y ligera, y las poblaciones separadas se recombinan a continuación con inserción en el vector, de modo que cualquier copiada del vector recibe una combinación aleatoria de una cadena pesada y de una cadena ligera. El vector se diseña para que exprese cadenas de anticuerpo de modo que se puedan ensamblar y presentar en la superficie externa de un paquete de presentación que contiene el vector. Por ejemplo, las cadenas de anticuerpos se pueden expresar como proteínas de fusión con una proteína de revestimiento de fago de la superficie externa del fago. A partir de ese momento, los paquetes de presentación se pueden identificar sistemáticamente para presentación de anticuerpos que se unen a una diana.

Además, algunos anticuerpos humanos se pueden derivar de bibliotecas de presentación de fagos (Hoogenboom *et al.*, J. Mol. Biol., 227: 381 (1991); Marks *et al.*, J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991); Vaughan *et al.*, Nature Biotech 14: 309 (1996)). Se pueden crear bibliotecas de fagos sintéticas que usan combinaciones aleatorias de regiones en V de anticuerpo humano sintético. Mediante la selección de anticuerpos totalmente humanos se pueden preparar antígenos en los que las regiones en V tienen una naturaleza muy similar a la humana. Véanse los documentos de patente de Estados Unidos n.º 6.794.132, 6.680.209, 4.634.666, y Ostberg *et al.*, (1983), Hybridoma 2: 361-367.

Para la generación de anticuerpos humanos, véase también Mendez *et al.*, Nature Genetics 15: 146-156 (1997), Green y Jakobovits J. Exp. Med. 188: 483-495 (1998). Algunos anticuerpos humanos se discuten adicionalmente y se describen en los documentos de patente de Estados Unidos n.º 5.939.598 y 6.673.986. Véanse también los documentos de patente de Estados Unidos n.º 6.114.598, 6.075.181, y 6.162.963, todos presentados el 5 de junio de 1995. Véase también el documento de patente de Estados Unidos n.º 6.150.584, presentado el 2 de octubre de 1996 y los documentos de patente de Estados Unidos n.º 6.713.610 y 6.657.103 así como las solicitudes de patente de Estados Unidos n.ºs 10/421.011 (US 2003-0229905 A1), 10/455.013 (US 2004-0010810 A1), 10/627.250 (US 2004-0093622 A1), 10/656.623 (US 2006-0040363 A1), 10/658.521 (US 2005-0054055 A1), 10/917.703 (US 2005-0076395 A1) y 10/978.297 (US 2005-0287630 A1). Véase también el documento PCT/US93/06926 presentado el 23 de julio de 1993, Patente Europea n.º, EP 0 463 151 B1, concesión publicada el 12 de junio de 1996, Solicitud de Patente Internacional n.º, documento WO 94/02602, publicado el 3 de febrero de 1994, Solicitud de Patente Internacional n.º, WO 96/34096, publicada el 31 de octubre de 1996, y documento WO 98/24893, publicado el 11 de junio de 1998.

En un enfoque alternativo, otros, incluyendo GenPharm International, Inc., han usado un enfoque de "minilocus". En el enfoque de minilocus, un locus de Ig exógeno se imita a través de la inclusión de piezas (genes individuales) del locus de Ig. Por lo tanto, uno o más genes de V<sub>H</sub>, uno o más genes de D<sub>H</sub>, uno o más genes de J<sub>H</sub>, una región constante mu, y una segunda región constante (preferentemente una región constante gamma) se forman en una construcción para inserción en un animal. Este enfoque se describe en el documento de patente de Estados Unidos n.º 5.545.807 to Surani *et al.*, y los documentos de patente de Estados Unidos n.ºs 5.545.806, 5.625.825, 5.625.126, 5.633.425, 5.661.016, 5.770.429, 5.789.650, y 5.814.318 cada uno de Lonberg y Kay, el documento de patente de Estados Unidos n.º 5.591.669 de Krimpenfort y Berns, los documentos de patente de Estados Unidos n.ºs 5.612.205, 5.721.367, 5.789.215 de Berns *et al.*, y el documento de patente de Estados Unidos n.º 5.643.763 de Choi y Dunn, y GenPharm International. Véanse también los documentos de patente de Estados Unidos n.ºs 5.569.825, 5.877.397, 6.300.129, 5.874.299, 6.255.458, y 7.041.871. Véanse también la Patente Europea n.º 0 546 073 B1, las Solicitudes de Patente Internacional con n.ºs WO 92/03918, WO 92/22645, WO 92/22647, WO 92/22670, WO 93/12227, WO 94/00569, WO 94/25585, WO 96/14436, WO 97/13852, y WO 98/24884. Véase también Taylor *et al.*, (1992 Nuc. Acids. Res., 20: 6287), Chen *et al.*, (1993 Int. Immunol. 5: 647), Tuaillon *et al.*, (1993 PNAS USA. 90: 3720-4), Choi *et al.*, (1993 Nature Genetics 4: 117), Lonberg *et al.*, (1994 Nature 368: 856-859), Taylor *et al.*, (1994 International Immunology 6: 579-591), y Tuaillon *et al.*, (1995 J Immunol. 154: 6453-65), Fishwild *et al.*, (1996 Nature Biotechnology 14: 845), y Tuaillon *et al.*, (2000 Eur J Immunol. 10: 2998-3005).

En el presente documento se describen anticuerpos anti-CD200 desinmunizados o fragmentos de unión a antígeno de los mismos. Los anticuerpos desinmunizados o fragmentos de unión a antígeno de los mismos se pueden modificar con el fin de hacer que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo no sea inmunogénico, o sea menos inmunogénico, para una especie dada. La desinmunización se puede conseguir modificando el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo usando cualquiera de una diversidad de técnicas conocidas por los expertos en la materia (véase por ejemplo, Publicaciones de PCT con n.ºs WO 04/108158 y WO 00/34317). Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se puede desinmunizar mediante la identificación de epítomos de linfocitos T y/o epítomos de linfocitos B potenciales dentro de la secuencia de aminoácidos del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo y retirando uno o más de los epítomos de linfocitos T y/o los epítomos de linfocitos B potenciales del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, por ejemplo, usando técnicas recombinantes. El anticuerpo modificado o fragmento de unión a antígeno del mismo se puede producir a continuación opcionalmente y someter a ensayo para identificar anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que hayan retenido una o más de las actividades biológicas deseadas, tales como, por ejemplo, afinidad de unión, pero que tengan una reducción de la inmunogenicidad. Algunos métodos para identificar epítomos de linfocitos T y/o epítomos de linfocitos B potenciales se pueden realizar usando técnicas conocidas en la técnica, tales como, por ejemplo, métodos informáticos (véase por ejemplo, Publicación de PCT n.º WO 02/069232), técnicas *in vitro* o *in silico*, y ensayos biológicos o métodos físicos (tales como, por ejemplo, determinación de la unión de péptidos o moléculas de MHC, determinación de la unión de complejos de péptido:MHC a los receptores de linfocitos T de las especies para recibir el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, someter a ensayo las partes de proteína o oscuras de la misma usando animales transgénicos con las moléculas de MHC de las especies para recibir el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, o someter a ensayo con animales transgénicos reconstituidos con células del sistema inmunitario de las especies para recibir el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, etc.). En diversas realizaciones, los anticuerpos anti-CD200 deshumanizados descritos en el presente documento incluyen fragmentos de unión a antígeno deshumanizados, Fab, Fv scFv, Fab' y F(ab')<sub>2</sub>, anticuerpos monoclonales, anticuerpos de murino, anticuerpos modificados por ingeniería (tales como, por ejemplo, anticuerpos quiméricos, de una sola cadena, injertados con CDR, humanizados, totalmente humanos, y anticuerpos seleccionados de manera artificial), anticuerpos sintéticos y anticuerpos semisintéticos.

Se puede producir ADN recombinante que comprende una inserción que codifica un dominio variable de cadena pesada y/o un dominio variable de cadena ligera de anticuerpos dirigidos a CD200 o una línea de células positivas para CD200. El término ADN incluye ADN de una sola cadena de codificación, ADN de doble cadena que consiste en dichos ADN de codificación y de ADN complementarios al mismo, o estos ADN complementarios (una sola cadena) por sí mismos.

Además, el ADN que codifica un dominio variable de cadena pesada y/o un dominio variable de cadena ligera de anticuerpos dirigidos a CD200 o a la línea de células positivas para CD200 puede ser ADN sintetizado por vía enzimática o por vía química que tiene la secuencia de ADN auténtica que codifica un dominio variable de cadena pesada y/o el dominio variable de cadena ligera, o un mutante del mismo. Un mutante del ADN auténtico es un ADN que codifica un dominio variable de cadena pesada y/o un dominio variable de cadena ligera de los anticuerpos mencionados anteriormente en los que uno o más aminoácidos se suprimen, insertan o intercambian con uno u otros aminoácidos más. Preferentemente dicha modificación o modificaciones están fuera de las CDR del dominio variable de cadena pesada y/o del dominio variable de cadena ligera del anticuerpo en aplicaciones de optimización de la humanización y de la expresión. La expresión ADN mutante también incluye mutantes silenciosos en los que uno o más nucleótidos están reemplazados con otros nucleótidos con los nuevos codones que codifican el mismo aminoácido(s). La expresión secuencia mutante también incluye una secuencia degenerada. Algunas secuencias degeneradas están degeneradas dentro del significado del código genético en el que un número ilimitado de nucleótidos se reemplazan con otros nucleótidos sin dar como resultado un cambio de la secuencia de aminoácidos codificada originalmente. Tales secuencias degeneradas pueden ser útiles debido a sus diferentes sitios de restricción y/o frecuencia de codones en particular que son preferentes para el hospedador específico, en particular *E. coli*, para obtener una expresión óptima del dominio variable de murino de cadena pesada y/o un dominio variable de murino de cadena ligera.

El término mutante pretende incluir un mutante de ADN obtenido mediante mutagénesis *in vitro* del ADN auténtico de acuerdo con métodos conocidos en la técnica.

Para el ensamblaje de moléculas de inmunoglobulina tetraméricas completas y la expresión de anticuerpos quiméricos, las inserciones de ADN recombinante que codifican dominios variables de cadena pesada y ligera se fusionan con los correspondientes ADN que codifican dominios constantes de cadena pesada y ligera, a continuación se transfieren en células hospedadoras apropiadas, por ejemplo después de incorporación en vectores híbridos.

Los ADN recombinantes incluyen una inserción que codifica un dominio variable de murino de cadena pesada de un anticuerpo dirigido a CD200 o una línea de células positivas para CD200 fusionada con una IgG de dominio constante humano, por ejemplo  $\gamma 1$ ,  $\gamma 2$ ,  $\gamma 3$  o  $\gamma 4$ ; en realizaciones en particular se puede usar  $\gamma 1$  o  $\gamma 4$ . También se proporcionan los ADN recombinantes que incluyen una inserción que codifica un dominio variable de murino de

cadena ligera de un anticuerpo dirigido a la línea celular desvelada en el presente documento fusionado con un dominio constante humano  $\kappa$  o  $\lambda$ , preferentemente  $\kappa$ .

En el presente documento se describen ADN que codifican un polipéptido recombinante en el que el dominio variable de cadena pesada y el dominio variable de cadena ligera están unidos mediante un grupo espaciador, que comprende opcionalmente una secuencia señal que facilita el procesamiento del anticuerpo en la célula hospedadora y/o una secuencia de ADN que codifica un péptido que facilita la purificación del anticuerpo y/o un sitio de escisión y/o un espaciador peptídico y/o un agente. El ADN que codifica una gente pretende ser un ADN que codifica el agente útil en aplicaciones de diagnóstico o terapéuticas. Por lo tanto, algunas moléculas de agente que son toxinas o enzimas, especialmente enzimas capaces de catalizar la activación de profármacos, están particularmente indicadas. El ADN que codifica un agente de este tipo tiene la secuencia de una enzima o toxina que codifica ADN de origen natural, o un mutante de las mismas, y se puede preparar con métodos bien conocidos en la técnica.

Por consiguiente, anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión a antígeno de la divulgación pueden ser anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno desnudos que no están conjugados con otros agentes, por ejemplo, un agente terapéutico o etiqueta detectable. Como alternativa, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno se puede conjugar con un agente tal como, por ejemplo, un agente citotóxico, una molécula pequeña, una hormona, una enzima, un factor de crecimiento, una citoquina, una ribozima, un peptidomimético, un agente químico, un profármaco, una molécula de ácido nucleico que incluye secuencias de codificación (tales como construcciones antisentido, ARNi, construcciones de dirección genética, etc.), o una etiqueta detectable (por ejemplo, un agente de contraste de RMN o rayos X, molécula fluorescente, etc.). Un polipéptido o fragmento de unión a antígeno anti-CD200 (por ejemplo, Fab, Fv, scFv de una sola cadena, Fab' y F(ab')<sub>2</sub>) se puede unir a una molécula que aumenta la semivida del polipéptido o fragmento de unión a antígeno mencionado. Las moléculas que se pueden unir a dicho polipéptido o fragmento de unión a antígeno anti-CD200 incluyen, pero no se limitan a, proteínas de suero incluyendo albúmina, polipéptidos, otras proteínas u otros dominios de proteína, y PEG.

Para la expresión de genes de cadena pesada y cadena ligera clonados en células de mamífero están disponibles varios sistemas de vector posibles. Una clase de vectores depende de la integración de las secuencias genéticas deseadas en el genoma de la célula hospedadora. Algunas células que han integrado el ADN de forma estable se pueden seleccionar mediante introducción de forma simultánea de genes de resistencia a fármacos tales como gpt de *E. coli* (Mulligan, R. C. y Berg, P., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 78: 2072 (1981)) o Tn5 neo (Southern, P. J. y Berg, P., J. Mol. Appl. Genet., 1: 327 (1982)). El gen marcador seleccionable puede estar unido a las secuencias genéticas de ADN a expresar, o se puede introducir en la misma célula mediante cotransfección (Wigler, M. *et al.*, Cell, 16: 77 (1979)). Una segunda clase de vectores usa elementos de ADN que confieren capacidades de replicación de forma autónoma para un plásmido extracromosómico. Estos vectores se pueden derivar de virus de animal, tales como virus del papiloma bovino (Sarver, N. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 79: 7147 (1982)), virus del poliovirus (Deans, R. J. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 81: 1292 (1984)), o virus SV40 (Lusky, M. y Botchan, M., Nature, 293: 79 (1981)).

Dado que un ADNc de inmunoglobulina está formado solamente por secuencias que representan el ARNm más duro que codifica una proteína de anticuerpo, algunos elementos de expresión genética adicionales que regulan la transcripción del gen y el procesamiento del ARN se requieren para la síntesis de ARNm de inmunoglobulina. Estos elementos pueden incluir señales de corte y empalme, promotores de transcripción, incluyendo potenciadores de promotores inducibles, y señales de terminación. Algunos vectores de expresión de ADNc que incorporan elementos de este tipo incluyen los que se describen en Okayama, H. y Berg, P., Mol. Cell Biol., 3: 280 (1983); Cepko, C. L. *et al.*, Cell, 37: 1053 (1984); y Kaufman, R. J., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 82: 689 (1985).

Un anticuerpo anti-CD200 puede ser un anticuerpo de bloqueo o de no bloqueo. Como se usa en el presente documento, un anticuerpo de bloqueo es uno que bloquea la interacción entre CD200 y CD200R. Un anticuerpo de no bloqueo se une y/o interactúa con CD200 pero no bloquea su interacción con CD200R. Un anticuerpo anti-CD200 es cualquiera de un anticuerpo murino, quimérico, humanizado como humano o desinmunizados de bloqueo o de no bloqueo.

## II. ANTAGONISTAS DE CD200 CON FUNCIONES EFECTORAS ALTERADAS

Los antagonistas de CD200 se pueden alterar para provocar un aumento o disminución de los efectos con respecto al antagonista original o precursor. Por ejemplo, un antagonista que se une a CD200 puede provocar funciones secundarias después de unión a CD200 y, en algunos casos, inhibir la interacción de CD200:CD200R. Por ejemplo, un antagonista puede contener sitios de unión adicionales para otros ligandos, incluyendo receptores o proteínas extracelulares. La unión a estos otros ligandos puede desencadenar otros sucesos, tales como la atracción o reclutamiento de otras células y la activación de diversos sucesos que incluyen muerte celular. En el presente documento se describen antagonistas de CD200 que provocan una alteración de las funciones secundarias (o funciones efectoras como se denominan en lo sucesivo). El antagonista de CD200 con función(s) secundaria o efectora alteradas puede presentar aumento, disminución, o ninguna función(s) secundaria o efectora, y además

pueden bloquear o no la interacción de CD200:CD200R. El antagonista de CD200 con función(s) secundaria o efectora alterada puede ser un anticuerpo anti-CD200.

#### A) FUNCIONES EFECTORAS

La interacción de anticuerpos y complejos de anticuerpo-antígeno con células del sistema inmunitario afecta a una diversidad de respuestas, denominadas en el presente documento funciones efectoras. Algunas funciones efectoras a modo de ejemplo incluyen unión a receptor de Fc, fagocitosis, regulación negativa de receptores de superficie celular (por ejemplo receptor de linfocitos B; BCR), etc. Otras funciones efectoras incluyen ADCC, mediante la que los anticuerpos se unen a receptores de Fc en linfocitos citolíticos naturales (NK) o macrófagos que conducen a la muerte celular, y CDC, que es muerte celular inducida a través de activación de la cascada del complemento (revisado en Daeron, *Annu. Rev. Immunol.* 15: 203-234 (1997); Ward y Ghetie, *Therapeutic Immunol.* 2: 77-94 (1995); y Ravetch y Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9: 457-492 (1991)). Las funciones efectoras de este tipo por lo general requieren que la región Fc se combine con un dominio de unión (por ejemplo un dominio variable de anticuerpo) y se pueden evaluar usando diversos ensayos como se desvela en el presente documento, por ejemplo.

Varias funciones efectoras de anticuerpo, incluyendo ADCC, están mediadas por receptores de Fc (FcR), que se unen a la región Fc de un anticuerpo. En la ADCC, los linfocitos NK o macrófagos se unen a la región Fc del complejo de anticuerpo y estimulan la lisis de la célula diana. La reticulación de los FcR en linfocitos NK desencadena citotoxicidad mediada por perforina/granzima, entraste en macrófagos, esta reticulación estimula la liberación de mediadores tales como óxido nítrico (NO), TNF- $\alpha$ , y especies reactivas del oxígeno. Para células diana positivas para CD200, un anticuerpo anti-CD200 se une a la célula diana y la región Fc dirige la función efectora a la célula diana. La afinidad de un anticuerpo para un FcR en particular, y por lo tanto la actividad efectora mediada por el anticuerpo, se puede modular mediante la alteración de la secuencia de aminoácidos y/o modificaciones después de la traducción de la región de Fc y/o constante del anticuerpo.

Los FcR se definen por su especificidad hacia isotipos de inmunoglobulina; los receptores de Fc para anticuerpos de IgG se denominan Fc $\gamma$ R, Fc $\epsilon$ R para IgE, Fc $\alpha$ R para IgA y así sucesivamente. Se han identificado tres subclases de Fc $\gamma$ R: Fc $\gamma$ RI (CD64), Fc $\gamma$ RII (CD32) y Fc $\gamma$ RIII (CD16). Dado que cada subclase de Fc $\gamma$ R está codificada por dos o tres genes, y un corte y empalme de ARN alternativo conduce a múltiples transcripciones, existe una amplia diversidad de isoformas de Fc $\gamma$ R. Los tres genes que codifican la subclase Fc $\gamma$ RI (Fc $\gamma$ RIA, Fc $\gamma$ RIB y Fc $\gamma$ RIC) están agrupados en la región 1q21.1 de del grupo de tratamiento del cromosoma 1; los genes que codifican las isoformas de Fc $\gamma$ RII (Fc $\gamma$ RIIA, Fc $\gamma$ RIIB y Fc $\gamma$ RIIC) y los dos genes que codifican Fc $\gamma$ RIII (Fc $\gamma$ RIIIA y Fc $\gamma$ RIIIB) están agrupados en la región 1q22. Estos subtipos de FcR diferentes se expresan en diferentes tipos de células (revisado en Ravetch y Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9: 457-492 (1991)). Por ejemplo, en seres humanos, Fc $\gamma$ RIIIB se encuentra solamente en neutrófilos, mientras que Fc $\gamma$ RIIIA se encuentra en macrófagos, monocitos, linfocitos citolíticos naturales (NK), y una su población de linfocitos T. En particular, Fc $\gamma$ RIIIA es el único FcR presente en linfocitos NK, uno de los tipos de células implicadas en ADCC.

Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RII y Fc $\gamma$ RIII son receptores de la super familia de inmunoglobulina (IgSF); Fc $\gamma$ RI tiene tres dominios de IgSF en su dominio extracelular, mientras que Fc $\gamma$ RII y Fc $\gamma$ RIII tienen solamente dos dominios de IgSF en sus dominios extracelulares. Otro tipo de receptor de Fc es el receptor de Fc neonatal (FcRn). El FcRn es estructuralmente similar al complejo de histocompatibilidad principal (MHC) y consiste en una cadena  $\alpha$  unidad de forma no covalente a la microglobulina  $\beta$ 2.

Previamente se han formado mapas del sitio de unión en anticuerpos humanos y murinos para Fc $\gamma$ R para la denominada "región bisagra inferior" que consiste en los restos 233-239 (numeración con el índice EU tal como en Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5<sup>a</sup> Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). Woof *et al.*, *Molec. Immunol.* 23: 319-330 (1986); Duncan *et al.*, *Nature* 332: 563 (1988); Canfield y Morrison, *J. Exp. Med.* 173: 1483-1491 (1991); Chappel *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 88: 9036-9040 (1991). De los restos 233-239, se han mencionado P238 y S239 como posiblemente implicados en la unión.

Otras áreas mencionadas anteriormente implicadas posiblemente en la unión a Fc $\gamma$ R son: G316-K338 (IgG humana) para Fc $\gamma$ RI humano (solamente mediante comparación de secuencias; no se evaluaron mutantes de sustitución) (Woof *et al.*, *Molec. Immunol.* 23: 319-330 (1986)); K274-R301 (IgG1 humana) para Fc $\gamma$ RIII humano (basado en péptidos) (Sarmay *et al.*, *Molec. Immunol.* 21: 43-51 (1984)); Y407-R416 (IgG humana) para Fc $\gamma$ RIII humano (basado en péptidos) (Gergely *et al.*, *Biochem. Soc. Trans.* 12: 739-743 (1984)); así como N297 y E318 (IgG2b murina) para Fc $\gamma$ RII de murino (Lund *et al.*, *Molec. Immunol.*, 29: 53-59 (1992)).

Las células efectoras humanas son leucocitos que expresan uno o más FcR y realizan funciones efectoras. En determinadas realizaciones, las células se expresan al menos Fc $\gamma$ RIII y realizan función efectora de ADCC. Algunos ejemplos de leucocitos humanos que median ADCC incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBMC), linfocitos citolíticos naturales (NK), monocitos, linfocitos T citotóxicos y neutrófilos. Algunas células efectoras se pueden aislar a partir de una fuente nativa de la misma, por ejemplo de sangre o de las PBMC.

En CDC, el complejo de anticuerpo-antígeno se une a complemento, dando como resultado la activación de la cascada de complemento y generación del complejo de ataque a la membrana. La activación de la ruta de complemento clásica comienza con la unión del primer componente del sistema del complemento (C1q) a anticuerpos (de la subclase apropiada) que se unen con su antígeno relacionado; por lo tanto, la activación de la cascada de complemento está regulada en parte por la afinidad de unión de la inmunoglobulina a la proteína C1q. C1q y dos serina proteasas, C1r y C1s, forman el complejo C1, el primer componente de la ruta de CDC. C1q es una molécula hexavalente con un peso molecular de aproximadamente 460.000 y una estructura en la que seis "tallos" colagenosos están conectados a seis regiones de cabeza globular. Burton y Woof, *Advances in Immunol.* 51: 1-84 (1992). Para activar la cascada de complemento, es necesario que C1q se una a al menos dos moléculas de IgG1, IgG2, o IgG3, pero solamente a una molécula de IgM, unida a la diana antigénica (Ward y Ghetie, *Therapeutic Immunology* 2: 77-94 (1995) p. 80). Para evaluar la activación del complemento, se puede realizar un ensayo de CDC, por ejemplo como se describe en Gazzano-Santoro *et al.*, *J. Immunol. Methods* 202: 163 (1996).

Se ha propuesto que diversos restos de la molécula de IgG están implicados en la unión a C1q incluyendo los restos Glu318, Lys320 y Lys322 en el dominio CH2, el resto 331 del aminoácido situado a su vez en proximidad a la misma hebra beta, los restos Lys235 y Gly237 situados en la región bisagra inferior, y los restos 231 a 238 situados en la región N-terminal del dominio CH2 (véase por ejemplo, Xu *et al.*, *J. Immunol.* 150: 152A (Resumen) (1993), WO94/29351; Tao *et al.*, *J. Exp. Med.*, 178: 661-667 (1993); Brekke *et al.*, *Eur. J. Immunol.* 24: 2542-47 (1994); Burton *et al.*, *Nature*, 288: 338-344 (1980); Duncan y Winter, *Nature* 332: 738-40 (1988); el documento de patente de Estados Unidos n.º 5.648.260, y el documento de patente de Estados Unidos n.º 5.624.821). Se ha propuesto adicionalmente que la capacidad de IgG para unirse a C1q y activar la cascada de complemento también depende de la presencia, ausencia o modificación del resto de carbohidrato colocado entre los dos dominios CH2 (que normalmente está anclado en Asn297) (Ward y Ghetie, *Therapeutic Immunology* 2: 77-94 (1995)). Uno o más de estos restos se pueden modificar, sustituir o retirar o uno o más restos de aminoácidos se pueden insertar para aumentar o disminuir la actividad de CDC de los anticuerpos anti-CD200 proporcionados en el presente documento.

#### B) ANTICUERPOS ANTI-CD200 CON FUNCIÓN(S) EFECTORA MODULADA

Algunas funciones efectoras que implican la región constante del anticuerpo específico de diana se pueden modular mediante la alteración de propiedades de la región constante o Fc. Algunas funciones efectoras alteradas incluyen, por ejemplo, una modulación en una o más de las siguientes actividades: ADCC, CDC, apoptosis, unión a uno o más receptores de Fc, y respuestas proinflamatorias. Modulación se refiere a un aumento, disminución o eliminación de una actividad en comparación con la actividad de un segundo anticuerpo. El segundo anticuerpo puede ser un anticuerpo con función efectora. El segundo anticuerpo puede ser un anticuerpo modificado por ingeniería o un anticuerpo de origen natural y se puede denominar anticuerpo no variante, nativo, o precursor. La modulación puede incluir situaciones en las que una actividad se anula o está completamente ausente. Además, en algunos casos, un anticuerpo no variante puede presentar una actividad de la función efectora similar o equivalente a la actividad de los anticuerpos chC2aB7-hG1 o los anticuerpos hB7V3V2-hG1 desvelados en el presente documento. De forma análoga, una región constante o de Fc funcional o no variante puede poseer una función efectora de un dominio constante o de Fc nativo; en algunos casos, la región constante o Fc de chC2aB7-hG1 o hB7V3V2-hG1 puede representar los dominios no variantes. Para los presentes fines, chC2aB7-hG1 y hB7V3V2-hG1 son los patrones frente a los que se comparan las actividades de otros anticuerpos, con hB7V3V2-hG1 siendo el patrón preferente.

Un variante de polipéptido con afinidad de unión a FcR alterada y/o actividad de ADCC y/o actividad de CDC alterada es un polipéptido que presenta un aumento o disminución de la actividad de la unión a FcR y/o actividad de ADCC y/o actividad de CDC en comparación con el polipéptido nativo o precursor o con un polipéptido que comprende una región de Fc o constante de secuencia nativa. Un variante de polipéptido que presenta un aumento de la unión a un FcR se une a al menos un FcR con una afinidad más elevada que el polipéptido precursor. Un variante de polipéptido que presenta disminución de la unión a un FcR se une a al menos un FcR con una afinidad menor que un polipéptido precursor. Las variantes de este tipo que presentan disminución de la unión a un FcR pueden poseer una unión escasa o poco apreciable a un FcR, por ejemplo, una unión de un 0-20 % al FcR en comparación con el nivel de unión de una región constante o de Fc de inmunoglobulina de secuencia nativa con respecto al FcR. De forma análoga una variante de polipéptido representa alteración de la actividad de ADCC y/o CDC puede presentar aumento o disminución de la actividad de ADCC y/o CDC en comparación con el polipéptido nativo o precursor. Una variante de polipéptido que presentará una reducción de ADCC y/o CDC puede presentar reducción o no de la actividad de ADCC y/o CDC como se muestra en el presente documento por ejemplo. El polipéptido precursor o nativo y su variante pueden ser anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno. El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno mencionado, se pueden unir a CD200 y pueden bloquear o no la interacción de CD200:CD200R.

Una región de Fc o constante de secuencia nativa comprende una secuencia de aminoácidos idéntica a la secuencia de aminoácidos de una región de cadena de Fc o constante encontrada en la naturaleza. Una región de Fc o constante variante o alterada comprende una secuencia de aminoácidos que se diferencia de la de una región de cadena pesada de secuencia nativa en virtud de al menos una modificación, inserción o delección de aminoácido, por ejemplo. La región constante variante Walter puede tener al menos una sustitución, inserción y/o delección de aminoácidos en comparación con una región constante de secuencia nativa o en comparación con la región

constante de un polipéptido precursor, por ejemplo de aproximadamente una a aproximadamente cien sustituciones, inserciones y/o deleciones de aminoácidos en una región constante de secuencia nativa o en la región constante del polipéptido precursor.

5 En el presente documento se describe una región constante variante o alterada que posee una homología o identidad (similitud) de al menos aproximadamente un 70 % con una región constante de secuencia nativa y/o con una región constante de un polipéptido precursor, y en algunos casos, una homología identidad con la misma de al menos aproximadamente un 75 % y en otros casos una homología identidad con la misma de al menos aproximadamente un 80 %, y en otros casos una homología identidad con la misma de al menos aproximadamente un 85 %, 90 % o un 95 %. La región constante variante o alterada también puede contener una o más deleciones o inserciones de aminoácidos. Además, la región constante variante puede contener una o más sustituciones, deleciones o inserciones de aminoácidos que da como resultado amino una alteración de las modificaciones después de la traducción, incluyendo, por ejemplo, un patrón de glicosilación alterado.

15 Algunos anticuerpos anti-CD200 variantes como se desvela en el presente documento se pueden codificar con una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un polipéptido con una o más inserciones, deleciones o sustituciones de aminoácidos con respecto to the secuencia del polipéptido nativo o precursor. Además, algunos anticuerpos variantes se pueden codificar con secuencias de ácidos nucleicos que se hibridan en condiciones rigurosas con una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un anticuerpo anti-CD200 variante. Se puede usar una diversidad de condiciones para detectar la hibridación, y la rigurosidad se determina principalmente mediante la etapa de lavado en el ensayo de hibridación. Por lo general las temperaturas elevadas y las concentraciones de sal bajas proporcionan alta rigurosidad, mientras que las temperaturas bajas y las concentraciones de sal elevadas proporcionan una rigurosidad baja. La hibridación de baja rigurosidad se consigue lavando, por ejemplo, en SSC a aproximadamente 2,0 x a 50 °C, y la alta rigurosidad se consigue con aproximadamente SSC 0,2 x a 50 °C.

25 Algunos anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos con funciones efectoras alteradas o sin funciones efectoras se pueden generar mediante ingeniería o produciendo anticuerpos con regiones de Fc, o de cadena pesada constantes variantes; se puede usar tecnología del ADN recombinante y/o condiciones de cultivo y expresión celular para producir anticuerpos con función y/o actividad alteradas. Por ejemplo, la tecnología del ADN recombinante se pueden usar para modificar por ingeniería una o más sustituciones, deleciones o inserciones de aminoácidos en regiones (tales como, por ejemplo, regiones de Fc o constantes) que influyen en la función del anticuerpo incluyendo las funciones efectoras. Como alternativa, se pueden conseguir cambios en modificaciones después de la traducción, tales como, por ejemplo patrones de glicosilación, manipulando las condiciones de cultivo y expresión celular en las que se produce el anticuerpo.

35 En el presente documento se describen anticuerpos anti-CD200 con funciones efectoras alteradas que comprenden una o más sustituciones, inserciones y/o deleciones de aminoácidos. Un anticuerpo anti-CD200 variante de este tipo puede presentar una reducción de la función efectora o ninguna. En realizaciones en particular, un anticuerpo valiente comprende una construcción de G2/G4 en lugar del dominio G1 (véanse las Figuras 10, 11, 12, 13, y 15, por ejemplo).

40 Además de intercambiar el dominio G1 con una construcción de G2/G4 como se presenta en el presente documento, se pueden producir anticuerpos anti-CD200 con reducción de la función efectora mediante introducción de otros tipos de cambios en la secuencia de aminoácidos de ciertas regiones del anticuerpo. Algunos cambios de este tipo en la secuencia de aminoácidos incluyen, pero no se limitan a, la mutación Ala-Ala descrita en Bluestone *et al.*, (véase el documento WO 94/28027 y WO 98/47531; véase también Xu *et al.*, 2000 Cell Immunol 200; 16-26). Por lo tanto, se describen anticuerpos anti-CD200 con mutaciones dentro de la región constante que incluyen la mutación Ala-Ala que se puede usar para reducir o anular la función efectora. La región constante de un anticuerpo anti-CD200 puede comprender una mutación para una alanina en la posición 234 o una mutación para una alanina en la posición 235. Además, la región constante puede contener una doble mutación: una mutación para una alanina en la posición 234 y una segunda mutación para una alanina en la posición 235. El anticuerpo anti-CD200 puede comprender un armazón de IgG4, en el que la mutación Ala-Ala podría describir una mutación(s) de fenilalanina a alanina en la posición 234 y/o una mutación de leucina a alanina en la posición 235. El anticuerpo anti-CD200 puede comprender un armazón de IgG1, en el que la mutación Ala-Ala podría describir una mutación(s) de leucina a alanina en la posición 234 y/o una mutación de leucina a alanina en la posición 235. Un anticuerpo anti-CD200 puede, como alternativa o adicionalmente, portar otras mutaciones, que incluyen la mutación puntual K322A en el dominio CH2 (Hezareh *et al.*, 2001 J Virol. 75: 12161-8). Un anticuerpo con dicha mutación(s) en la región constante puede ser además un anticuerpo de bloqueo o de no bloqueo.

60 Algunos cambios dentro de la región bisagra también influyen en las funciones efectoras. Por ejemplo, la delección de la región bisagra puede reducir la afinidad hacia receptores de Fc y puede reducir la activación del complemento (Klein *et al.*, 1981 PNAS USA 78: 524-528). Por lo tanto, la presente divulgación también se refiere a anticuerpos con alteraciones en la región bisagra.

65 Los anticuerpos anti-CD200 se pueden modificar para aumentar o inhibir la citotoxicidad dependiente de complemento (CDC). La actividad de CDC modulada se puede conseguir mediante introducción de una o más

sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácidos en una región de Fc del anticuerpo (véase, por ejemplo, el documento de patente de Estados Unidos n.º 6.194.551). Como alternativa o adicionalmente, se puede introducir resto(s) de cisteína en la región de Fc, permitiendo de ese modo la formación de enlaces disulfuro intercadena en esta región. El anticuerpo homodimérico generado de este modo puede aumentar o reducir la capacidad de internalización y/o aumentar o disminuir la eliminación celular mediada por complemento. Véase Caron *et al.*, J. Exp Med. 176: 1191-1195 (1992) y Shopes, B. J. Immunol. 148: 2918-2922 (1992), documento WO99/51642, Duncan y Winter Nature 322: 738-40 (1988); documento de patente de Estados Unidos n.º 5.648.260; documento de patente de Estados Unidos n.º 5.624.821; y el documento WO94/29351. También se pueden preparar anticuerpos homodiméricos con aumento de la actividad antitumoral usando agentes de reticulación heterobifuncionales como se describe en Wolff *et al.*, Cancer Research 53: 2560-2565 (1993). Como alternativa, un anticuerpo que tiene regiones dobles de Fc se puede modificar por ingeniería y por lo tanto puede presentar aumento de lisis de complemento y capacidades de ADCC. Véase Stevenson *et al.*, Anti-Cancer Drug Design 3: 219-230 (1989).

Otro medio potencial para modular la función efectora de anticuerpos incluye cambios en la glicosilación. Este tema lo ha revisado recientemente Raju quien resume la importancia propuesta de los oligosacáridos encontrados en las IgG humanas con su grado de función efectora (Raju, TS. BioProcess International April 2003. 44-53). De acuerdo con Wright y Morrison, la microheterogeneidad de algunos oligosacáridos de IgG humana puede influir en las funciones biológicas tales como CDC y ADCC, uniéndose a diversos receptores de Fc, y uniéndose a la proteína C1q (Wright A. y Morrison SL. TIBTECH 1997, 15 26-32). Está bien documentado que algunos patrones de glicosilación de anticuerpos pueden diferenciarse dependiendo de las condiciones de producción de células y las condiciones de cultivo celular (Raju, TS. BioProcess International April 2003. 44-53). Tales diferencias pueden conducir a cambios tanto en la función efectora como en la farmacocinética (Israel *et al.*, Immunology. 1996; 89 (4): 573-578; Newkirk *et al.*, P. Clin. Exp. 1996; 106 (2): 259-64). Las diferencias en la función efectora se pueden relacionar con la capacidad de las IgG para unirse a los receptores de Fcγ (FcγR) en las células efectoras. Shields, *et al.*, han mostrado que la IgG, con variantes en la secuencia de aminoácidos que presentan un aumento de la unión a FcγR, pueden presentar hasta un 100 % de aumento de ADCC usando células efectoras humanas (Shields *et al.*, J Biol Chem. 2001 276 (9): 6591-604). Aunque estas variantes incluyen algunos cambios en los aminoácidos no encontrados en la superficie de contacto de unión, tanto la naturaleza del componente de azúcar así como su patrón estructural también pueden contribuir a las diferencias. Además, la presencia o ausencia de fucosa en el componente oligosacárido de una IgG puede aumentar la unión y la ADCC (Shields *et al.*, J Biol Chem. 2002; 277 (30): 26733-40). Una IgG que carece de un carbohidrato fucosilado unido a Asn<sup>297</sup> presentaba una unión de receptor normal al receptor Fcγ. Por el contrario, la unión al receptor FcγRIIA aumentó en un 50 % que iba acompañada por un aumento de ADCC, especialmente a concentraciones de anticuerpos más bajas.

El trabajo de Shinkawa, *et al.*, demostró que un anticuerpo para el receptor de IL-5 humano producido en un hibridoma de rata mostraba una ADCC más elevada en más de un 50 % cuando se comparaba con el anticuerpo producido en células de ovario de hámster chino (CHO) (Shinkawa *et al.*, J Biol Chem. 2003 278 (5): 3466-73). La composición del monosacárido y la formación de perfiles de oligosacáridos mostraban que la IgG producida por hibridoma de rata presenta un contenido menor de fucosa que la proteína producida por CHO. Los autores llegaron a la conclusión de que la carencia de fucosilación de una IgG1 tiene un papel fundamental en el aumento de la actividad de ADCC.

Umana, *et al.*, siguieron un enfoque diferente que cambiaba el patrón de glicosilación de chCE7, un anticuerpo quimérico anti-neuroblastoma de IgG1 (Umana *et al.*, Nat Biotechnol. 1999 Feb; 17 (2): 176-80). Usando tetraciclina, éstos regularon la actividad de una enzima glicosiltransferasa (GnII) que biseca oligosacáridos que se han visto implicados en la actividad de ADCC. La actividad de ADCC del anticuerpo precursor era apenas superior a la del nivel de fondo. La medida de la actividad de ADCC del chCE7 producido a diferentes niveles de tetraciclina presentaba un intervalo óptimo de expresión de GnIIH para la actividad máxima de ADCC *in vitro* de chCE7. Esta actividad se correlacionó con el nivel de oligosacárido complejo bisecado, asociado con la región constante constant. Las variantes recién optimizadas presentaban una actividad de ADCC sustancial. De forma análoga, Wright y Morrison produjeron anticuerpos en una línea de células CHO deficientes en glicosilación (1994 J Exp Med 180: 1087-1096) y mostraron que los anticuerpos producidos en esta línea celular eran incapaces de citólisis mediada por complemento. Por lo tanto, dado que las alteraciones conocidas que influyen en la función efectora incluyen modificaciones en el patrón de glicosilación o un cambio en el número de restos glicosilados, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo CD200 en el que la glicosilación está alterada para aumentar o disminuir la función(s) efectora incluyendo ADCC y CDC. La glicosilación alterada incluye una disminución o aumento en el número de restos glicosilados así como un cambio en el patrón o ubicación de restos glicosilados.

Además, existen otros enfoques para la alteración de la función efectora de anticuerpos. Por ejemplo, las células que producen anticuerpos pueden ser hipermutagénicas, generando de ese modo anticuerpos con restos de nucleótidos y polipéptidos alterados de forma aleatoria a través de toda una molécula de anticuerpo (véase el documento WO 2005/011735). Algunas células hospedadoras hipermutagénicas incluyen células deficientes en reparación de emparejamiento de ADN. Los anticuerpos producidos de esta manera pueden ser menos antigénicos y/o pueden tener propiedades farmacocinéticas beneficiosas. Además, los anticuerpos de este tipo se pueden seleccionar para propiedades tales como aumento o disminución de la función(s) efectora.

Se entiende adicionalmente que la función efectora puede variar de acuerdo con la afinidad de unión del anticuerpo. Por ejemplo, algunos anticuerpos con afinidad elevada pueden ser más eficaces en la activación del sistema del complemento en comparación con anticuerpos con una afinidad relativamente menor (Marzocchi-Machado *et al.*, 1999 Immunol Invest 28: 89-101). Por consiguiente, un anticuerpo se puede alterar de modo que la afinidad de unión hacia su antígeno se reduce (por ejemplo, cambiando las regiones variables del anticuerpo con métodos tales como sustitución, adición o delección de uno o más restos de aminoácidos). Un anticuerpo anti-CD200 con afinidad de unión reducida puede presentar funciones efectoras reducidas, incluyendo, por ejemplo, ADCC y/o CDC reducidas.

### III. MÉTODOS PARA REDUCIR O ELIMINAR CÉLULAS QUE SOBREEXPRESAN CD200

En el presente documento se describen métodos para reducir células que expresan CD200 en sujeto mediante la administración a sujeto de una terapia que comprende un antagonista de CD200. Como se ha mencionado anteriormente, CD200 se expresa en ciertas células inmunitarias; y como se demuestra en la presente divulgación, CD200 también se expresa en ciertas células malignas. La expresión diversa de CD200 proporciona una vía mediante la que dirigir las células cancerosas (es decir, células positivas para CD200) para terapia. De forma análoga, algunas células inmunitarias positivas para CD200 se pueden dirigir para la reducción en métodos para el tratamiento de trastornos autoinmunitarios.

CD200, a través de su interacción con CD200R en células mieloides, modula la inmunosupresión mediante su ministro de una señal de inhibición para actividad y/o migración mieloide. Los ratones con supresión genética de CD200, por ejemplo, demuestran una respuesta inmunitaria más activa después de estímulos inmunogénicos (Hoek *et al.*, Science 2000), y las células que expresan CD200 provocan inmunosupresión mediante la inducción de un desplazamiento en el perfil de citoquina de células inmunitarias estimuladas (véanse los datos que se muestran en el presente documento). De forma específica, las células positivas para CD200 son capaces de inducir un desplazamiento de producción de citoquina Th1 a Th2 en ensayos de población de células mixtas. Aunque las células positivas para CD200 son capaces de suprimir la respuesta inmunitaria, las células cancerosas positivas para CD200, en consecuencia, pueden ser capaces de escapar del ataque de células inmunitarias. Sin embargo, la expresión de CD200 en la membrana de células cancerosas así como células inmunitarias se puede aprovechar para dirigir estas células en terapia. Por ejemplo, un antagonista anti-CD200 se puede dirigir de forma específica a células positivas para CD200 e interrumpir la interacción de CD200:CD200R, inhibiendo de ese modo la supresión inmunitaria, así como algunas células diana positivas para CD200 con respecto a células efectoras inmunitarias. Las realizaciones de la presente divulgación, por lo tanto, se refieren a métodos para dirigir células positivas para CD200 a la reducción que comprende un antagonista que se une a CD200 y, en algunos casos, interrumpe la interacción de CD200:CD200R.

En el presente documento se describen métodos para aumentar la respuesta inmunitaria. Algunos métodos de este tipo incluyen la administración de una terapia que comprende un antagonista de CD200, y en realizaciones en particular con el antagonista es un anticuerpo anti-CD200 o fragmento de unión a antígeno como expone en el presente documento. Aunque no se desea quedar ligado por ningún mecanismo(s) en particular, un anticuerpo anti-CD200 de bloqueo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido u otro antagonista puede eliminar las células positivas para CD200 mediante el bloqueo de la supresión inmunitaria, permitiendo de este modo que las células inmunitarias ataquen y eliminen las células positivas para CD200. Como alternativa o en combinación con el mecanismo mencionado anteriormente, un anticuerpo anti-CD200 (ya sea de bloqueo o de no bloqueo) u otro antagonista puede reclutar células efectoras u otros ligandos (por ejemplo, componente de complemento) a la célula positiva para CD200 a la que se une el anticuerpo o antagonista y dirige en la célula positiva para CD200 para muerte celular mediada por efector.

En el presente documento se describen métodos para modular ADCC y/o CDC de células diana positivas para CD200 mediante la administración de un anticuerpo anti-CD200 murino, quimérico, humanizado o humano a un sujeto con necesidad del mismo. La divulgación se refiere a anticuerpos anti-CD200 variantes que provocan un aumento de ADCC y/o CDC y a anticuerpos anti-CD200 variantes que presentan una reducción o no de la actividad de ADCC y/o CDC.

El anticuerpo anti-CD200 variante comprende una región variante o Fc alterada o constante, en el que la región Fc variante o constante presenta un aumento de la función efectora. La región variante mencionada de este tipo puede contener uno o más sustituciones, inserciones o delecciones de aminoácidos. Como alternativa o adicionalmente, la región variante o Fc alterada o constante puede comprender modificaciones posteriores a la traducción alteradas, incluyendo, por ejemplo, un patrón de glicosilación alterado. Un patrón de glicosilación alterado incluye un aumento o disminución del número de enlaces glicosídicos y/o una modificación en la posición (es decir, número de restos de aminoácidos) de uno o más enlaces glicosídicos.

En el presente documento también se describen métodos para disminuir o eliminar células CD200 positivas para que comprendan anticuerpos anti-CD200 variantes que presentan reducción o no de la actividad de ADCC y/o CDC. El anticuerpo anti-CD200 variante puede comprender una región Fc variante o alterada o región constante, en el que la región Fc variante o constante presenta disminución o no de la función efectora. La región Fc variante Walter o constante mencionada de este tipo puede contener una o más sustituciones, inserciones o delecciones de

aminoácido. Como alternativa o adicionalmente, la región Fc variante o constante puede comprender modificaciones después de la traducción alteradas, que incluyen, pero no se limitan a, un patrón de glicosilación alterado. Algunos ejemplos de patrones de glicosilación alterados se han descrito anteriormente.

Un anticuerpo anti-CD200 murino, quimérico, humanizado, humano o desinmunizado se puede administrar a un paciente, que es un anticuerpo de no bloqueo. El anticuerpo anti-CD200 de no bloqueo puede ser un anticuerpo variante como se ha descrito anteriormente y en consecuencia puede presentar modulación de la función(s) efectora. Por ejemplo, un anticuerpo anti-CD200 variante puede no bloquear la interacción de CD200:CD200R y también puede comprender una región constante variante que provoca un aumento de la función efectora, tal como, por ejemplo, aumento de ADCC.

#### A) MÉTODOS PARA TRATAR PACIENTES CON TRASTORNOS AUTOINMUNITARIOS

En el presente documento se describe el tratamiento de pacientes con trastornos autoinmunitarios con una terapia que comprenden antagonista de CD200. El antagonista puede ser un anticuerpo anti-CD200 o fragmento de unión a antígeno del mismo. El anticuerpo anti-CD200 o fragmento del mismo puede ser un anticuerpo anti-CD200 variante que presenta modulación de la actividad efectora. Por ejemplo, el anticuerpo variante puede comprender una región constante variante o alterada capaz de provocar aumento o potenciación de la función efectora, tal como, por ejemplo, ADCC. Además, el anticuerpo mencionado puede ser un anticuerpo de no bloqueo y puede ser un anticuerpo anti-CD200 murino, quimérico, humanizado, humano o desinmunizado. Por lo tanto, los métodos para tratar pacientes con trastornos autoinmunitarios pueden comprender cualquiera de los antagonistas y anticuerpos de CD200 como se establece en la presente divulgación.

Los anticuerpos anti-CD200 o antagonistas de CD200 se pueden usar para disminuir cualquier tipo de célula que expresa CD200 en su superficie, incluyendo, por ejemplo, células inmunitarias tales como linfocitos T, linfocitos B, y células dendríticas. Los anticuerpos anti-CD200 pueden ser útiles para la destrucción dirigida de células inmunitarias implicadas en una respuesta inmunitaria lo deseaba, tal como, por ejemplo, respuestas inmunitarias asociadas con un trastorno autoinmunitario, trasplantes, alergias, o trastornos inflamatorios. Algunas enfermedades y trastornos autoinmunitarios a modo de ejemplo que se pueden tratar con los anticuerpos anti-CD200 proporcionados en el presente documento incluyen, por ejemplo, respuestas inflamatorias tales como enfermedades cutáneas inflamatorias que incluyen psoriasis y dermatitis (por ejemplo, dermatitis atópica); dermatomiositis; esclerodermia sistémica y esclerosis; respuestas asociadas con enfermedad inflamatoria del intestino (tal como enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa); síndrome de distrés respiratorio (incluyendo síndrome de distrés respiratorio del adulto; ARDS); dermatitis; meningitis; encefalitis; uveítis; colitis; glomerulonefritis; afecciones alérgicas tales como eccema y asma y otras afecciones que implican infiltración de linfocitos T y respuestas inflamatorias crónicas; aterosclerosis; deficiencia de adhesión leucocitaria; artritis reumatoide; lupus sistémico eritematoso (SLE); diabetes mellitus (por ejemplo, diabetes mellitus de tipo I o diabetes mellitus dependiente de insulina); esclerosis múltiple; síndrome de Reynaud; tiroiditis autoinmunitaria; encefalomiелitis alérgica; síndrome de Sjogren; diabetes de inicio juvenil; y respuestas inmunitarias asociadas con hipersensibilidad aguda y retardada mediada por citoquinas y linfocitos T encontradas por lo general en tuberculosis, sarcoidosis, polimiositis, granulomatosis y vasculitis; anemia perniciosa (enfermedad de Addison); enfermedades implican diapedesis leucocitaria; trastorno inflamatorio del sistema nervioso central (SNC); síndrome de lesión orgánica múltiple; anemia hemolítica (que incluye, pero no se limita a crioglobulinemia o anemia positiva de Coombs); miastenia gravis; enfermedades mediadas por el complejo de antígeno-anticuerpo; enfermedad de la membrana basal antilomerular; síndrome antifosfolipídico; neuritis alérgica; enfermedad de Graves; síndrome miasténico de Lambert-Eaton; pénfigo bulloso; pénfigo; poliendocrinopatías autoinmunitarias; enfermedad de Reiter; síndrome del hombre rígido; enfermedad de Bechet; arteritis de células gigantes; nefritis de complejo inmunitario; nefropatía de IgA; polineuropatías de IgM; púrpura trombocitopénica inmunitaria (ITP) o trombocitopenia autoinmunitaria y enfermedades hemolíticas autoinmunitarias, tiroiditis de Hashimoto, etc.

De acuerdo con los métodos y composiciones que se describen en el presente documento, la divulgación también se refiere a métodos para tratar a un paciente de trasplante o aloinjerto. Un anticuerpo anti-CD200 u otro antagonista de CD200 de la presente divulgación se puede administrar a un paciente antes de un procedimiento de trasplante o aloinjerto o después del procedimiento para disminuir o eliminar células inmunitarias positivas para CD200 que podrían reducir la aceptación del órgano o tejido trasplantado por parte del paciente. A un paciente de trasplante se le puede administrar un anticuerpo anti-CD200 con aumento de la función efectora. Además, un anticuerpo anti-CD200 es un anticuerpo de no bloqueo.

Las terapias que comprenden antagonistas o anticuerpos de CD200 se pueden administrar a pacientes en terapias de combinación. Por consiguiente, la eliminación dirigida de ciertas poblaciones de células inmunitarias para tratar o prevenir trastornos autoinmunitarios, aumentar o prolongar la supervivencia del trasplante, tratado prevenir alergias, o tratar o prevenir trastornos inflamatorios, se pueden administrar como parte de una terapia de combinación. Por ejemplo, a un paciente que recibe una primera terapia que comprende un antagonista de CD200 (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD200 descrito en el presente documento) también se le puede proporcionar una segunda terapia. El antagonista de CD200 se puede administrar de forma simultánea con la segunda terapia. Como alternativa, el

antagonista de CD200 se puede proporcionar antes o después de la segunda terapia. Las segundas terapias incluyen, pero no se limitan a, agentes antiinflamatorios, agentes inmunosupresores, y/o agentes antiinfecciosos.

Algunas terapias de combinación de la presente divulgación incluyen, por ejemplo, un antagonista de CD200 como se describe en el presente documento administrado de forma simultánea o de forma secuencial en serie con esteroides, agentes antimalaria, aspirina, fármacos antiinflamatorios no esteroideos, agentes inmunosupresores, o fármacos citotóxicos. Están incluidos corticosteroides (por ejemplo prednisona, dexametasona, y prednisolona), metotrexatem, metilprednisolona, inmunosupresores macrólidos (por ejemplo sirolimus y tacrolimus), inhibidores mitóticos (por ejemplo azatioprina, ciclofosfamida, y metotrexato), metabolitos fúngicos que inhiben la actividad de los linfocitos T (por ejemplo ciclosporina), micofenolato mofetilo, acetato de glatiramer, y agentes citotóxicos y que dañan el ADN (por ejemplo clorambucilo). Para pacientes con trastornos autoinmunitarios y pacientes de aloinjerto o trasplante, la terapia anti-CD200 se puede combinar con tratamientos con anticuerpos que incluyen daclizumab, un anticuerpo monoclonal de IgG1 humana modificada por ingeniería genética que se une de forma específica a la cadena  $\alpha$  del receptor de interleuquina-2, así como otros diversos anticuerpos que se dirigen a células inmunitarias u otras células. Las terapias de combinación de este tipo pueden ser útiles en el tratamiento de diabetes de tipo 1, artritis reumatoide, lupus, y púrpura trombocitopénica idiopática, y otras indicaciones autoinmunitarias. La divulgación también se refiere a terapias para trastornos autoinmunitarios y para pacientes de trasplante que comprenden un antagonista de CD200 (tal como, por ejemplo, los anticuerpos y variantes del mismo descritos en la presente divulgación) conjugados con uno o más agentes.

## B) MÉTODOS PARA TRATAR PACIENTES CON CÁNCER

En el presente documento se describe un método para tratar el cáncer en el que se administra un agente que interrumpe o inhibe la interacción de CD200 con su receptor a un sujeto. La interrupción de la interacción de CD200:CD200R posteriormente revierte o inhibe la supresión inmunitaria, aumentando de este modo la respuesta inmunitaria. Algunos posibles agentes para la interrupción de la interacción de CD200:CD200R incluyen, por ejemplo, moléculas pequeñas, agentes químicos, polipéptidos, moléculas inorgánicas, y compuestos organometálicos. La interacción de CD200:CD200R también se pueden inhibir mediante la reducción de la expresión de cualquiera de la proteína de membrana o su receptor a través de terapia antisentido, ARNi, o genética. Además, un polipéptido específico para CD200 o CD200R, tal como un anticuerpo específico anti-CD200 o anti-CD200R o fragmentos de los mismos, puede inhibir los efectos inmunosupresores de la interacción de CD200:CD200R.

Algunas células cancerosas que se pueden tratar con un antagonista de CD200 incluyen cualquier célula cancerosa que presente expresión de CD200 o regulación positiva de CD200. Algunos cánceres para los que se puede usar terapia anti-CD200 incluyen, por ejemplo, cáncer de ovario, melanoma, mieloma, neuroblastoma, renal, mama, próstata, tumores malignos hematológicos (por ejemplo linfomas y leucemias), de células plasmáticas. También se incluye cualquier célula cancerosa derivada de células de la cresta neuronal. El antagonista de CD200 de la invención es un anticuerpo anti-CD200. Los anticuerpos de este tipo usados como agentes terapéuticos anticáncer son capaces de interferir con la interacción de CD200 y sus receptores. Esta interferencia puede bloquear el efecto de inmunosupresión de CD200. Al aumentar la respuesta inmunitaria de esta manera, los anticuerpos de este tipo pueden estimular la erradicación de células cancerosas. Algunos anticuerpos anti-CD200 también se pueden dirigir a células cancerosas para muerte celular mediada por efector.

Un anticuerpo anti-CD200 variante que presenta modulación de la actividad de ADCC y/o CDC se puede administrar a un sujeto con células cancerosas positivas para CD200. Por ejemplo, un anticuerpo anti-CD200 variante usado en terapia para el cáncer puede presentar aumento de la actividad efectora en comparación con el anticuerpo precursor o nativo. De acuerdo con la presente invención, el anticuerpo anti-CD200 variante presenta reducción de la función efectora, incluyendo reducción de ADCC, con respecto al anticuerpo nativo. El anticuerpo mencionado puede ser un anticuerpo murino, quimérico, humanizado, humano o desimmunizado. Algunos cánceres para los que se puede usar el anticuerpo anti-CD200 variante en el tratamiento incluyen, pero no se limitan a, cánceres de células de la cresta neuronal. También están incluidos cáncer de células plasmáticas, cáncer de ovario, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer renal, cáncer de mama, cáncer de próstata, neuroblastoma, linfoma, mieloma, y leucemia.

Los presentes anticuerpos se pueden administrar como un agente terapéutico a pacientes con cáncer, en especial, pero no limitados a, pacientes con CLL, cáncer de células plasmáticas, cáncer de ovario, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer renal, cáncer de mama, cáncer de próstata, neuroblastoma, linfoma, mieloma, leucemia, y cualquier cáncer derivado de células de la cresta neuronal. En el presente documento se describe una terapia para el cáncer de acuerdo con la presente divulgación que comprende (1) administrar un anticuerpo anti-CD200 o antagonista que interfiera con la interacción entre CD200 y su receptor para bloquear la supresión inmunitaria, estimulando de ese modo la erradicación de las células cancerosas; y/o (2) administrar una molécula de fusión que incluye una parte de dirección a CD-200 para eliminar directamente las células cancerosas. Como alternativa, el anticuerpo elimina directamente las células cancerosas a través de citotoxicidad celular mediada por complemento o dependiente de anticuerpo. Dado que CD200 también se expresa en células normales tales como células endoteliales, aunque a niveles menores que en las células cancerosas, también podría ser ventajoso administrar un anticuerpo anti-CD200 con una región constante modificada para reducir o eliminar ADCC o CDC para limitar el daño a las células normales. Por ejemplo, si la expresión de CD200 se regula de forma positiva en algunas células normales activadas

(por ejemplo, linfocitos T activados), haciendo que tales células sean vulnerables a eliminación por un anticuerpo anti-CD200 con función efectora, por lo tanto, podría ser ventajoso usar un anticuerpo anti-CD200 que careciera de función efectora para evitar la disminución de estas células que ayudan en la destrucción de células cancerosas.

En una realización en particular, la función efectora de algunos anticuerpos anti-CD200 se elimina mediante el intercambio del dominio constante de IgG1 por un dominio de fusión de IgG2/4. Se pueden concebir otras formas de eliminar la función efectora tales como, por ejemplo, mutación de sitios conocidos por que interactúan con FcR o inserción de un péptido en la región bisagra, eliminando de ese modo sitios críticos requeridos para interacción con FcR. Algunos anticuerpos anti-CD200 variantes con reducción de la función efectora o ninguna también incluyen variantes como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

Los agentes mencionados anteriormente para la inhibición o prevención de la interacción de CD200:CD200R se pueden usar en combinación con otras terapias o con otros agentes. Otros agentes incluyen, pero no se limitan a, polipéptidos, moléculas pequeñas, agentes químicos, metales, compuestos organometálicos, compuestos inorgánicos, moléculas de ácido nucleico, oligonucleótidos, aptámeros, espejémeros, ácidos nucleicos antisentido, inhibidores de ácido nucleico bloqueados (LNA), inhibidores de ácido nucleico peptídicos (PNA), agentes inmunomoduladores, fragmentos de unión a antígeno, profármacos, y compuestos peptidomiméticos.

En el presente documento también se describen tratamientos de combinación que comprenden un antagonista de CD200 incluyendo los anticuerpos que se describen en el presente documento y compuestos inmunomoduladores, vacunas o quimioterapia. Algunos ejemplos ilustrativos de agentes inmunomoduladores adecuados que se pueden usar en terapias de combinación de este tipo incluyen agentes que bloquean la regulación negativa de linfocitos T o células de presentación de antígeno (por ejemplo, anticuerpos anti-CTLA4, anticuerpos anti-PD-L1, anticuerpos anti-PDL-2, anticuerpos anti-PD-1 y similares) o agentes que aumentan la coestimulación positiva de los linfocitos T (por ejemplo, anticuerpos anti-CD40 o anticuerpos anti 4-1BB) o agentes que aumentan el índice de linfocitos NK o actividad de los linfocitos T (por ejemplo, anticuerpos anti-CD200 solos o en combinación con inhibidores tales como los IMiD, talidomida, o análogos de talidomida). Además, la terapia inmunomoduladora podría incluir vacunas para el cáncer tales como células dendríticas cargadas con células tumorales, proteínas, péptidos, ARN, o ADN derivado de células de este tipo, proteínas de choque térmico derivadas del paciente (hsp) o adyuvantes generales que estimulan el sistema inmunitario a diversos niveles tales como CpG, Luivac, Biostim, Ribominilo, Imudon, Bronchovaxom o cualquier otro compuesto o adyuvante que activar receptores del sistema inmunitario innato (por ejemplo, agonista de receptor de tipo toll, anticuerpos anti-CTLA-4, etc.). Además, la terapia inmunomoduladora podría incluir tratamiento con citoquinas estables como IL-2, GM-CSF e IFN-gamma.

La eliminación de los linfocitos T reguladores existentes con reactivos tales como anti-CD25, fludarabina, o ciclofosfamida se puede conseguir antes de comenzar con el tratamiento anti-CD200. Además, la eficacia terapéutica de algunas terapias mieloablativas seguido de trasplante de médula ósea o transferencia adoptiva de linfocitos T reactivos con células CLL aumenta con la terapia anti-CD200. La eficacia del tratamiento anti-CD200 puede mejorar bloqueando los mecanismos de inmunosupresión con agentes tales como anticuerpos anti-PDL1 y/o 2, anticuerpos anti-IL-10, anticuerpos anti-IL-6, y similares. Además, podría ser ventajoso eliminar células dendríticas plasmacitoides, que se ha mostrado que son inmunosupresoras en el entorno del cáncer. En estas divulgaciones en las que se pretende la administración de un anticuerpo anti-CD200 para aumentar una respuesta inmunitaria mediante el bloqueo de la supresión inmunitaria, por ejemplo, también se puede usar un anticuerpo anti-CD200 variante que carezca de función efectora.

La terapia que aumenta la respuesta inmunitaria puede ser la administración de un polipéptido que se une a CD200, sólo o en combinación con una de las terapias inmunomoduladoras mencionadas anteriormente. Por consiguiente, un antagonista de CD200 (incluyendo un anticuerpo anti-CD200 como se describe en el presente documento) se puede usar en combinación con un anticuerpo monoclonal (por ejemplo, rituximab, trastuzumab, alemtuzumab, cetuximab, o bevacizumab), incluyendo un anticuerpo monoclonal conjugado (por ejemplo, gemtuzumab ozogamicina, ibritumomab tiuxetano, o tositumomab).

Además, la combinación de la terapia anti-CD200 con agentes quimioterapéuticos podría ser particularmente útil para reducir la carga tumoral global, para limitar la angiogénesis, para aumentar la accesibilidad tumoral, para aumentar la susceptibilidad a ADCC, para dar como resultado un aumento de la función inmunitaria al proporcionar más antígeno tumoral, o para aumentar la expresión del abstracto de linfocitos T, LIGHT. Cuando la terapia anti-CD200 se administra a un sujeto en combinación con otro agente antineoplásico convencional, ya sea de manera simultánea o secuencial, se puede mostrar que la terapia anti-CD200 aumenta el efecto terapéutico de cualquier agente solo. Algunos cómputos farmacéuticos que se pueden usar para terapia antitumoral combinatoria incluyen, simplemente para ilustrar: aminoglutetimida, amsacrina, anastrozol, asparaginasa, bcg, bicalutamida, bleomicina, buserelina, busulfán, camptotecina, capecitabina, carboplatino, carmustina, clorambucilo, cisplatino, cladribina, clodronato, colchicina, ciclofosfamida, ciproterona, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daunorrubicina, dienestrol, dietilstilbestrol, docetaxel, doxorubicina, epirubicina, estradiol, estramustina, etopósido, exemestano, filgrastim, fludarabina, fludrocortisona, fluorouracilo, flouximasterona, flutamida, gemcitabina, genisteína, goserelina, hidroxiaurea, idarrubicina, ifosfamida, imatinib, interferón, irinotecán, letrozol, leucovorina, leuprolida, levamisol, lomustina, mecloretamina, medroxiprogesterona, megestrol, melfalán, mercaptopurina, mesna, metotrexato,

mitomicina, mitotano, mitoxantrona, nilutamida, nocodazol, octreótido, oxaliplatino, paclitaxel, pamidronato, pentostatina, plicamicina, porfímero, procarbazona, raltitrexed, rituximab, estreptozocina, suramina, tamoxifeno, temozolomida, tenipósido, testosterona, tioguanina, tiotepa, diclorhidrato de titanoceno, topotecán, trastuzumab, tretinoína, vinblastina, vincristina, vindesina, y vinorelbina.

Estos compuestos antitumorales quimioterapéuticos se pueden clasificar por su mecanismo de acción en grupos, que incluyen, por ejemplo, las siguientes clases de agentes: antimetabolitos/agentes anticáncer, tales como análogos de pirimidina (5-fluorouracilo, floxuridina, capecitabina, gemcitabina y citarabina) y análogos de purina, antagonistas de folato e inhibidores relacionados (mercaptopurina, tioguanina, pentostatina y 2-clorodesoxiadenosina (cladribina)); agentes antiproliferativos/antimitóticos que incluyen productos naturales tales como alcaloides de la vinca (vinblastina, vincristina, y vinorelbina), interruptores de microtúbulos tales como taxano (paclitaxel, docetaxel), vincristina, vinblastina, nocodazol, epotilonas y navelbina, epididodofilotoxinas (etopósido, tenipósido), agentes que dañan el ADN (actinomicina, amsacrina, antraciclinas, bleomicina, busulfán, camptotecina, carboplatino, clorambucilo, cisplatino, ciclofosfamida, citoxano, dactinomicina, daunorrubicina, doxorubicina, epirubicina, hexametilmelaminaoxaliplatino, ifosfamida, melfalán, mecloretamina, mitomicina, mitoxantrona, nitrosourea, plicamicina, procarbazona, taxol, taxotere, tenipósido, trietilenotiofosforamida y etopósido (VP16)); antibióticos tales como dactinomicina (actinomicina D), daunorrubicina, doxorubicina (adriamicina), idarrubicina, antraciclinas, mitoxantrona, bleomicinas, plicamicina (mitramicina) y mitomicina; enzimas (L-asparaginasa que metabólica de manera sistémica la L-asparagina y priva a las células que no tienen la capacidad de sintetizar su propia asparagina); agentes antiplaquetarios; agentes de alquilación antiproliferativos/antimitóticos tales como mostazas de nitrógeno (mecloretamina, ciclofosfamida y análogos, melfalán, clorambucilo, etileniminas y metilmelaminas (hexametilmelamina y tiotepa), sulfonatos de alquilo -busulfán, nitrosoureas (carmustina (BCNU) y análogos, estreptozocina), tracenos - dacarbazina (DTIC); antimetabolitos antiproliferativos/antimitóticos tales como análogos del ácido fólico (metotrexato); complejos de coordinación de platino (cisplatino, carboplatino), procarbazona, hidroxiurea, mitotano, aminoglutetimida; hormonas, análogos hormonales (estrógeno, tamoxifeno, goserelina, bicalutamida, nilutamida) y inhibidores de la aromatasa (letrozol, anastrozol); anticoagulantes (heparina, sales de heparina sintética y otros inhibidores de trombina); agentes fibrinolíticos (tales como activador del plasminógeno tisular, estreptoquinasa y uroquinasa), aspirina, dipiridamol, ticlopidina, clopidogrel, abciximab; agentes antimigratorios; agentes antiseoretos (breveldina); agentes inmunosupresores (ciclosporina, tacrolimus (FK-506), sirolimus (rapamicina), azatioprina, micofenolato mofetilo); agentes inmunomoduladores (talidomida y análogos de la misma tales como lenalidomida (Revlimid, CC-5013) y CC-4047 (Actimid)), ciclofosfamida; compuestos antiangiogénicos (TNP-470, genisteína) e inhibidores del factor de crecimiento (inhibidores del factor de crecimiento endoteliales vascular (VEGF), inhibidores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF)); bloqueador de receptores de angiotensina; dadores de óxido nítrico; oligonucleótidos antisentido; anticuerpos (trastuzumab); inhibidores del ciclo celular e inductores de la diferenciación (tretinoína); inhibidores de mTOR, inhibidores de la topoisomerasa (doxorubicina (adriamicina), amsacrina, camptotecina, daunorrubicina, dactinomicina, enipósido, epirubicina, etopósido, idarrubicina y mitoxantrona, topotecán, irinotecán), corticosteroides (cortisona, dexametasona, hidro cortisona, metilprednisolona, prednisona, y prenisolona); inhibidores de quinasa de transducción de señales del factor de crecimiento; inductores de disfunción mitocondrial y activadores de caspasa; y interruptores de cromatina.

Algunos compuestos farmacéuticos que se pueden usar para terapia anti-angiogénesis combinatoria incluyen: (1) inhibidores de la liberación de "moléculas angiogénicas", tales como bFGF (factor básico de crecimiento de fibroblastos); (2) neutralizadores de moléculas angiogénicas, tales como anticuerpos anti- $\beta$ bFGF; y (3) inhibidores de la respuesta de células endoteliales a estímulos angiogénicos, que incluyen inhibidor de la collagenasa, inhibidores de la renovación de la membrana basal, esteroides angiostáticos, inhibidores de la angiogénesis derivados de hongos, factor 4 plaquetario, trombospondina, fármacos para la artritis tales como D-penicilamina y tiomalato de oro, análogos de vitamina D<sub>3</sub>, interferón alfa, y similares. Para inhibidores de angiogénesis propuestos adicionales, véanse Blood *et al.*, Biochim. Biophys. Acta, 1032: 89-118 (1990), Moses *et al.*, Science, 248: 1408-1410 (1990), Ingber *et al.*, Lab. Invest., 59: 44-51 (1988), y documentos de patente de Estados Unidos n.º 5.092.885, 5.112.946, 5.192.744, 5.202.352, y 6.573.256. Además, existe una gran diversidad de compuestos que se pueden usar para inhibir la angiogénesis, por ejemplo, péptidos o agentes que bloquean la ruta de la angiogénesis mediada por VEGF, proteína endostatina o derivados, fragmentos de unión a lisina de angiostatina, melanina o compuestos que estimulan la melanina, fragmentos de plasminógeno (por ejemplo, Kringles 1-3 de plasminógeno), subunidades de troponina, antagonistas de la vitronectina  $\alpha_3\beta_3$ , péptidos derivados de la Saposina B, antibióticos o análogos (por ejemplo, tetraciclina, o neomicina), composiciones que contienen dienogest, compuestos que comprenden un núcleo inhibidor de MetAP-2 acoplado a un péptido, el compuesto EM-138, chalcona y sus análogos, e inhibidores de la naaladasa. Véanse, por ejemplo, los documentos de patente de Estados Unidos n.ºs 6.395.718, 6.462.075, 6.465.431, 6.475.784, 6.482.802, 6.482.810, 6.500.431, 6.500.924, 6.518.298, 6.521.439, 6.525.019, 6.538.103, 6.544.758, 6.544.947, 6.548.477, 6.559.126, y 6.569.845.

Dependiendo de la naturaleza de la terapia de combinación, la administración del anticuerpo anti-CD200 puede continuar aunque la otra terapia se esté administrando y/o a partir de ese momento. La administración del anticuerpo se puede realizar en una sola dosis, o en múltiples dosis. En algunos casos, la administración del anticuerpo anti-CD200 comienza al menos varios días antes de la terapia convencional, aunque en otros casos, la administración comienza inmediatamente antes o en el momento de la administración de la terapia convencional. En algunos casos,

el anticuerpo anti-CD200 se administrará después de otras terapias, o se podría administrar de forma alternativa con otras terapias.

Los presentes anticuerpos se pueden usar para eliminar directamente o hacer ablación de células cancerosas *in vivo*. La eliminación dirigida implica la administración de los anticuerpos (que ocasionalmente se fusionan con un fármaco citotóxico) a un sujeto que requiere un tratamiento de este tipo. Dado que los anticuerpos reconocen CD200 en las células cancerosas, se destruye cualquier célula de este tipo a la que se unen los anticuerpos. Cuando los anticuerpos se usan solos para eliminar o para hacer ablación de células cancerosas, tal eliminación o ablación se puede realizar iniciando las funciones inmunitarias del hospedador endógeno, tales como CDC y/o ADCC. Los ensayos para determinar si un anticuerpo elimina las células de esta manera están dentro del alcance de los expertos en la materia.

Los anticuerpos de la presente divulgación se pueden usar para suministrar una diversidad de compuestos citotóxicos. Cualquier compuesto citotóxico se puede fusionar con los presentes anticuerpos. La fusión se debe conseguir de forma química o de forma genética (por ejemplo, mediante la expresión con una sola molécula, fusionada). El compuesto citotóxico puede ser un compuesto biológico, tal como un polipéptido, o una molécula pequeña. Como observaran los expertos en la materia, para moléculas pequeñas, se usa fusión química, aunque para los compuestos biológicos, se puede usar cualquiera de fusión química o genética.

Algunos ejemplos no limitantes de compuestos citotóxicos incluyen fármacos terapéuticos, un compuesto que emite radiación, moléculas de origen vegetal, fúngico o bacteriano, proteínas biológicas y mezclas de los mismos. Los fármacos citotóxicos pueden ser fármacos citotóxicos de acción por vía intracelular, tales como emisores de radiación de corto alcance, que incluyen, por ejemplo, emisores  $\alpha$  de alta energía, de corto alcance. Algunas toxinas enzimáticamente activas y fragmentos de las mismas se ejemplifican con el fragmento de toxina A de difteria, fragmentos activos de no unión de toxina de difteria, exotoxina A (de *Pseudomonas aeruginosa*), cadena de ricina A, cadena de abrina A, cadena de modicina A, alfa-sacrina, ciertas proteínas de *Aleurites fordii*, ciertas proteínas de Diantina, proteínas de *Phytolacca americana* (PAP, PAPII y PAP-S), inhibidor de *Morodica charantia*, curcina, crotina, inhibidor de *Saponaria officinalis*, gelonina, mitogilina, restrictocina, fenomicina, y enomicina, por ejemplo. Algunos procedimientos para preparar polipéptidos enzimáticamente activos de las inmunotoxinas se describen en los documentos WO84/03508 y WO85/03508. Ciertos restos citotóxicos derivan de adriamicina, clorambucilo, daunomicina, metotrexato, neocarzinostatina y platino, por ejemplo.

Algunos procedimientos para conjugar los anticuerpos con los agentes citotóxicos se han descrito anteriormente que están dentro del alcance de un experto en la materia.

Como alternativa, el anticuerpo se puede acoplar con emisores de radiación de alta energía, por ejemplo, un radioisótopo, tal como  $^{131}\text{I}$ , un emisor  $\gamma$ , que, cuando se localiza en el sitio del tumor, da como resultado una eliminación de células de varios diámetros. Véase, por ejemplo, S. E. Order, "Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody in Cancer Therapy", Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy, R. W. Baldwin *et al.*, (eds.), pp 303-316 (Academic Press 1985). Otros radioisótopos adecuados incluyen emisores  $\alpha$ , tales como  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{213}\text{Bi}$ , y  $^{211}\text{At}$ , y emisores  $\beta$ , tales como  $^{186}\text{Re}$  e  $^{90}\text{Y}$ .

Los presentes anticuerpos de unión a CD200 pueden proporcionar el beneficio de bloquear la supresión inmunitaria en CLL mediante la dirección de las células de leucemia directamente a través de CD200. De forma específica, la estimulación del sistema inmunitario puede permitir la erradicación de las células de CLL del bazo y de los ganglios linfáticos. Los solicitantes no tienen conocimiento de que se haya conseguido ninguna erradicación satisfactoria de células CLL a partir de estos microentornos con agentes que simplemente se dirigen a los linfocitos B (tales como alemtuzumab). Por el contrario, los linfocitos T reactivos hacia CLL pueden tener un mejor acceso a estos órganos que los anticuerpos. En otras realizaciones, la eliminación celular directa se consigue mediante el etiquetado de las células de CLL con Abs anti-CD200.

De acuerdo con las composiciones y métodos de la presente divulgación, la combinación de eliminación celular directa y conducción de la respuesta inmunitaria hacia un perfil de Th1 proporciona un enfoque particularmente potente para el tratamiento del cáncer. Por lo tanto, en el presente documento se describe un tratamiento para el cáncer en el que un anticuerpo o fragmento de anticuerpo, que se une a CD200 y que tanto a) bloquea la interacción entre CD200 y su receptor como que b) elimina directamente las células cancerosas que expresan CD200, se administra a un paciente con cáncer. El mecanismo mediante el que las células cancerosas se eliminan puede incluir, pero no se limita a ADCC y/o CDC; fusión con una toxina; fusión con una radioetiqueta; fusión con un agente etiológico implicado en la eliminación celular, tal como granzima B o perforina; fusión con un virus citotóxicos; fusión con una citoquina tal como TNF- $\alpha$  o IFN- $\alpha$ . Un tratamiento para el cáncer también puede implicar la administración de un anticuerpo que tanto a) bloquea la interacción entre CD200 y su receptor como que b) aumenta la actividad de los linfocitos T o linfocitos NK citotóxicos con respecto al tumor. Tal potenciación de la actividad de los linfocitos T o linfocitos NK citotóxicos, por ejemplo, se puede combinar mediante fusión del anticuerpo con citoquina sales como por ejemplo IL-2, IL-12, IL-18, IL-13, e IL-5. Además, una potenciación de este tipo se puede conseguir mediante la administración de un anticuerpo anti-CD200 en combinación con inhibidores tales como los IMiD, talidomida, o análogos de talidomida.

El tratamiento del cáncer puede implicar la administración de un anticuerpo que tanto (1) bloquea la interacción entre CD200 y su receptor como que (2) atrae a los linfocitos T a las células tumorales. La atracción de los linfocitos T se puede conseguir fusionando el Ab con quimioquinas tales como MIG, IP-10, I-TAC, CCL21, CCL5 o LIGHT. Además, el tratamiento con agentes quimioterapéuticos puede dar como resultado la regulación positiva deseada de LIGHT.

5 La acción combinada del bloqueo de la supresión inmunitaria y la eliminación directamente a través de dirección de anticuerpos de las células tumorales es un enfoque único que proporciona un aumento de la ética.

Los anticuerpos anti-CD200 también se pueden usar como una herramienta de diagnóstico de acuerdo con la presente divulgación. Las biopsias o muestras de tejido de células cancerosas se pueden someter a ensayo para expresión de CD200 antes del tratamiento para predecir la eficacia de la terapia anti-CD200, sola o en combinación con otros agentes o métodos (tales como agentes quimioterapéuticos, radioterapia, terapia inmunomoduladora, etc.). Por ejemplo, usando sangre obtenida de pacientes con cánceres hematopoyéticos, la expresión de CD200 se puede evaluar en células cancerosas mediante análisis de FACS usando anticuerpos anti-CD200 en combinación con los marcadores de células cancerosas apropiados tales como, por ejemplo, CD38 y CD19 en células CLL. Los pacientes con niveles de CD200 de al menos 1,4 veces superiores a los niveles encontrados en los linfocitos B normales se pueden seleccionar para tratamiento con anticuerpos anti-CD200. Como otro ejemplo, algunas muestras de tejido de un paciente se pueden teñir con anticuerpo anti-CD200 para determinar la expresión de CD200 en las células malignas y normales del paciente.

En otro ejemplo del uso de los presentes anticuerpos anti-CD200 como una herramienta de diagnóstico o de pronóstico, se obtienen biopsias de pacientes con tumores malignos y la expresión de CD200 se determina mediante análisis de FACS usando anticuerpos anti-CD200 o mediante inmunohistoquímica usando anti-CD200. Si la célula tumoral expresa CD200 a niveles que son al menos 1,4 veces más elevados en comparación con el correspondiente tejido normal, los pacientes con cáncer se seleccionan para terapia inmunomoduladora (que incluye, pero no se limita a, una terapia que comprende terapia anti-CD200). Para células derivadas de cáncer que normalmente no expresan CD200, cualquier CD200 detectable en biopsias de tejido indican la posible utilidad de la terapia anti-CD200. La terapia inmunomoduladora puede ser una terapia anti-CD200, pero también puede ser cualquier otra terapia que influya en el sistema inmunitario del paciente. Algunos ejemplos de terapias inmunomoduladoras adecuadas incluyen la administración de agentes que bloquean la regulación negativa de los linfocitos T cells o células de presentación de antígeno (por ejemplo, anti-CTLA4, anti-PD-L1, anti-PDL-2, anti-PD-1) o la administración de agentes que aumentan la coestimulación positiva de los linfocitos T (por ejemplo, anti-CD40 o anti 4-1BB). Además, la terapia inmunomoduladora podría ser vacunas para el cáncer tales como péptidos heterocíclicos o péptidos de células tumorales que generan linfocitos T citotóxicos o células dendríticas cargadas con células tumorales, o la administración de agentes que aumentan el índice de linfocitos NK o actividad de los linfocitos T (por ejemplo, anticuerpos anti-CD200 solos o en combinación con inhibidores tales como los IMiD, talidomida o análogos de talidomida), o la administración de agentes que suprimen los linfocitos T reguladores (por ejemplo anticuerpos anti-CD200 solos o en combinación con ONTAK), o células dendríticas plasmacitoides. La combinación con agentes que aumentan la migración de linfocitos T o células dendríticas también es ventajosa, tal como, por ejemplo, cualquier agente que bloquee SPARC. Además, la terapia inmunomoduladora podría ser una vacuna para el cáncer, tales como células dendríticas cargadas con células tumorales, ARN tumoral o ADN tumoral de exosomas derivados de paciente, proteína tumoral o péptidos tumorales, proteínas de choque térmico derivadas del paciente (hsp), hsp cargadas con antígenos tumorales o adyuvantes generales que estimulan el sistema inmunitario a diversos niveles tales como CpG, Luivac, Biostim, Ribominilo, Imudon, Bronchovaxom o cualquier otro compuesto que active los receptores del sistema inmunitario innato (por ejemplo, receptores de tipo toll). Además, la terapia podría incluir el tratamiento con citoquinas tales como IL-2, GM-CSF e IFN-gamma. También se contempla la combinación con agentes que restablecen la actividad comprometida de las células dendríticas en el entorno tumoral tales como por ejemplo inhibidores de la MAP quinasa.

Los anticuerpos descritos en el presente documento también se pueden usar para detectar células cancerosas *in vivo*. La detección *in vivo* se consigue mediante etiquetado del anticuerpo, administración del anticuerpo etiquetado a un sujeto, y a continuación formación de imágenes del sujeto. Algunos ejemplos de etiquetas útiles para formación de imágenes de diagnóstico de acuerdo con la presente divulgación son radioetiquetas tales como <sup>131</sup>I, <sup>111</sup>In, <sup>123</sup>I, <sup>99m</sup>Tc, <sup>32</sup>P, <sup>125</sup>I, <sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C, y <sup>188</sup>Rh, etiquetas fluorescentes tales como fluoresceína y rodamina, etiquetas activas para resonancia magnética nuclear, isótopos de emisión de positrones detectables con un escáner de tomografía de emisión de positrones ("PET"), agentes quimioluminiscentes tales como luciferina, y marcadores enzimáticos tales como peroxidasa o fosfatasa. También se pueden usar algunos emisores de radiación de corto alcance, tales como isótopos detectables con sondas de detección de corto alcance, tal como una sonda transrectal. El anticuerpo se puede etiquetar con reactivos de este tipo usando técnicas conocidas en la técnica. Por ejemplo, véase Wensel y Meares, Radioimmunoimaging y Radioimmunotherapy, Elsevier, N.Y. (1983) para técnicas relacionadas con el radioetiquetado de anticuerpos. Véase también, D. Colcher *et al.*, "Use of Monoclonal Antibodies as Radiopharmaceuticals for the Localization of Human Carcinoma Xenografts in Athymic Mice", Met. Enzymol. 121: 802-816 (1986).

Un anticuerpo radioetiquetado de acuerdo con la presente divulgación se puede usar para ensayos de diagnóstico *in vitro*. La actividad específica de un anticuerpo, parte de unión del mismo, sonda o ligando depende de la semivid, la pureza isotópica de la etiqueta radiactiva, y cómo se incorpora la etiqueta en el agente biológico. En ensayos de

inmunoensayo, cuanto mayor es la actividad específica, en general, mejor es la sensibilidad. Por lo general, en la técnica se conocen algunos procedimientos para el etiquetado de anticuerpos con los isótopos radiactivos.

El anticuerpo radioetiquetado se puede administrar a un paciente cuando se localizan células cancerosas que portan el antígeno con el que reacciona el anticuerpo, y se detecta o "se forman imágenes" *in vivo* usando técnicas conocidas tales como barrido radionuclear usando por ejemplo, una cámara gamma o tomografía de emisión. Véase por ejemplo, A. R. Bradwell *et al.*, "Developments in Antibody Imaging", *Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy*, R. W. Baldwin *et al.*, (eds.), pp. 65-85 (Academic Press 1985). Como alternativa, un escáner de tomografía transaxial de emisión de positrones, tal como el denominado Pet VI ubicado en el Brookhaven National Laboratory, se puede usar cuando la radioetiqueta emite positrones (por ejemplo,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{15}\text{O}$ , y  $^{13}\text{N}$ ).

Algunos agentes biológicos etiquetados con fluoróforo y cromóforo se pueden preparar con restos convencionales conocidos en la técnica. Dado que algunos anticuerpos y otras proteínas absorben luz que tiene longitudes de onda de hasta aproximadamente 310 nm, se deberían seleccionar los restos fluorescentes para que tuvieran una absorción sustancial en longitudes de onda superiores a 310 nm y preferentemente superiores a 400 nm. Una diversidad de agentes fluoróforos y cromóforos se describe en Stryer, *Science*, 162: 526 (1968) y Brand, L. *et al.*, *Annual Review of Biochemistry*, 41: 843-868 (1972). Los anticuerpos se pueden etiquetar con grupos cromóforos fluorescentes mediante procedimientos convencionales tales como los que se desvelan en los documentos de patente de Estados Unidos n.ºs 3.940.475, 4.289.747, y 4.376.110.

En el presente documento también se describen algunos métodos para controlar la evolución y/o eficacia de un tratamiento terapéutico. El método implica la administración de una terapia inmunomoduladora y determinar los niveles de CD200 en un sujeto, al menos dos veces, para determinar la eficacia de la terapia. Por ejemplo, los niveles de tratamiento previo de CD200 se pueden discernir y, después de al menos una administración de la terapia, los niveles de CD200 se pueden determinar de nuevo. Una disminución de los niveles de CD200 es indicativa de un tratamiento eficaz. La medida de los niveles de CD200 puede ser usada por el experto como una directriz para aumentar la cantidad o la frecuencia de la dosificación de la terapia. Por supuesto, se debería entender que los niveles de CD200 se pueden controlar directamente o, como alternativa, cualquier marcador que se correlacione con CD200 se puede controlar. Otros métodos para determinar la eficacia de esta terapia incluyen, pero no se limitan a, detección de células cancerosas, recuento linfocitario total, tamaño del ganglio linfático, número de linfocitos T de regulación, perfiles de citoquina en el suero o intracelulares, o secreción de citoquina por linfocitos T o B tal como se mide con ELISPOT.

#### C. OTROS ANTAGONISTAS DE CD200

Los antagonistas y polipéptidos y/o anticuerpos de CD200 usados en la presente divulgación están especialmente indicados para aplicaciones de diagnóstico y terapéuticas como se describe en el presente documento. Por consiguiente, algunos antagonistas CD200 y anticuerpos anti-CD200 y variantes de los mismos se pueden usar en terapias, que incluyen terapias de combinación, en el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad, así como en el control de la evolución de la enfermedad.

También se describen algunos anticuerpos biespecíficos. Los anticuerpos biespecíficos son anticuerpos monoclonales, preferentemente humanos o humanizados, que tienen especificidades de unión para al menos dos antígenos diferentes. En el presente caso, una de las especificidades de uniones para el antígeno CD200 en una célula (tal como, por ejemplo, una célula cancerosa o celular inmunitaria), la otra es para cualquier otro antígeno, y preferentemente para una proteína o receptor de la superficie celular o subunidad receptora.

Algunos métodos para preparar anticuerpos biespecíficos están dentro del alcance de los expertos en la materia. De forma tradicional, la producción recombinante de anticuerpos biespecíficos se basa en la coexpresión de dos pares de cadena pesada/cadena ligera de inmunoglobulina, en los que las dos cadenas pesadas tienen diferentes especificidades (Milstein y Cuello, *Nature*, 305: 537-539 (1983)). Los dominios variables de anticuerpo con las especificidades de unión deseadas (sitios de combinación de anticuerpo-antígeno) se pueden fusionar con secuencias de dominio constante de inmunoglobulina. La fusión se realiza preferentemente con un dominio constante de cadenas pesadas de inmunoglobulina, incluyendo al menos parte de las regiones bisagra, CH2, y CH3. Los ADN que codifican las fusiones de cadena pesada de inmunoglobulina y, si se desea, la cadena ligera de inmunoglobulina, se insertan en vectores de expresión separados, y se cotransfectan en un organismo hospedador adecuado. Para detalles adicionales de métodos ilustrativos conocidos en la actualidad para generar anticuerpos biespecíficos véase, por ejemplo, Suresh *et al.*, *Methods in Enzymology*, 121: 210 (1986); documento WO 96/27011; Brennan *et al.*, *Science* 229: 81 (1985); Shalaby *et al.*, *J. Exp. Med.* 175: 217-225 (1992); Kostelny *et al.*, *J. Immunol.* 148 (5): 1547-1553 (1992); Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993); y Gruber *et al.*, *J. Immunol.* 152: 5368 (1994); y Tutt *et al.*, *J. Immunol.* 147: 60 (1991). Los anticuerpos biespecíficos también incluyen anticuerpos reticulados o heteroconjugados. Algunos anticuerpos heteroconjugados se pueden preparar usando cualquier método de reticulación conveniente. Algunos agentes de reticulación adecuados se conocen bien en la técnica, y se desvelan en el documento de patente de Estados Unidos n.º 4.676.980, junto con un número de técnicas de reticulación.

También se han descrito diversas técnicas para preparar y aislar fragmentos de anticuerpo biespecífico directamente a partir de cultivo de células recombinantes. Por ejemplo, se han producido algunos anticuerpos biespecíficos usando cremalleras de leucina. Kostelny *et al.*, J. Immunol., 148 (5): 1547-1553 (1992). Los péptidos de cremallera de leucina de las proteínas Fos y Jun se pueden unir a las partes de Fab' de dos anticuerpos diferentes mediante fusión genética. Los homodímeros de anticuerpo se pueden reducir a la región bisagra para formar monómeros y a continuación se pueden volver a oxidar para formar los homodímeros de anticuerpo. Este método también se puede usar para la producción de homodímeros de anticuerpo. La tecnología de "diacuerpo" descrita por Hollinger *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 6444-6448 (1993) a proporcionar un mecanismo alternativo para preparar fragmentos de anticuerpo biespecífico. Los fragmentos comprenden un dominio variable de cadena pesada ( $V_H$ ) conectado a un dominio variable de cadena ligera ( $V_L$ ) con un conector que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre los dos dominios en la misma cadena. Por consiguiente, los dominios  $V_H$  y  $V_L$  de un fragmento se ven forzados a emparejarse con los dominios  $V_L$  y  $V_H$  complementarios de otro fragmento, formando de ese modo dos sitios de unión a antígeno. También se ha informado de otra estrategia para preparar fragmentos de anticuerpo biespecífico con el uso de dímeros de Fv de una sola cadena (scFv). Véase Gruber *et al.*, J. Immunol., 152: 5368 (1994). Como alternativa, los anticuerpos pueden ser "anticuerpos lineales" como se describe en Zapata *et al.*, Protein Eng. 8 (10): 1057-1062 (1995). En resumen, estos anticuerpos comprenden un par de segmentos de Fd en tándem ( $V_H$ - $C_H1$ - $V_H$ - $C_H1$ ) que forman un par de regiones de unión a antígeno. Los anticuerpos lineales pueden ser biespecíficos o monoespecíficos.

#### D. MODOS DE ADMINISTRACIÓN Y FORMULACIONES

La vía de administración de anticuerpos de los anticuerpos de la presente divulgación (ya sea el anticuerpo puro, un anticuerpo etiquetado, un anticuerpo fusionado con una toxina, etc.) está de acuerdo con métodos conocidos, por ejemplo, inyección o infusión mediante las vías intravenosa, intraperitoneal, intracerebral, intramuscular, subcutánea, intraocular, intraarterial, intratecal, inhalación o intralesional, o mediante sistemas de liberación sostenida. El anticuerpo se administra preferentemente de manera continua por infusión o mediante inyección de bolo. Los anticuerpos se pueden administrar de una manera local o sistémica.

Los presentes anticuerpos se pueden preparar en una mezcla con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Algunas técnicas para formulación y administración de los compuestos de la presente solicitud se pueden encontrar en "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Co., Easton, PA, última edición. Esta composición terapéutica se puede administrar por vía intravenosa o a través de la nariz o pulmón, preferentemente en forma de un líquido o aerosol de polvo (liofilizado). La composición también se puede administrar por vía parenteral o por vía subcutánea si se desea. Cuando se administra por vía sistémica, la composición terapéutica debería ser estéril, sustancialmente sin pirógenos y en una solución parenteral en que aceptable teniendo debidamente en cuenta el pH, isotonicidad, y estabilidad. Por ejemplo, una preparación farmacéutica está sustancialmente libre de materiales pirogénicos con el fin de que sea adecuada para administración como un agente terapéutico para seres humanos. Los expertos en la materia conocen estas condiciones.

Algunas composiciones farmacéuticas adecuadas para su uso incluyen composiciones en las que uno o más de los presentes anticuerpos están contenidos en la cantidad eficaz para conseguir su finalidad pretendida. De forma más específica, una cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a una cantidad de anticuerpo eficaz para prevenir, aliviar o mejorar síntomas de enfermedad por prolongar la supervivencia del sujeto que se está tratando. La determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz está bien dentro de la capacidad de los expertos en la materia, especialmente a la vista de la divulgación detallada proporcionada en el presente documento. Las dosificaciones terapéuticamente eficaces se pueden determinar usando métodos *in vitro* e *in vivo*.

Aunque la divulgación mencionada anteriormente se ha dirigido a anticuerpos, en algunas realizaciones se pueden usar polipéptidos derivados de tales anticuerpos de acuerdo con la presente divulgación.

#### Ejemplos

##### MODELO DE RATÓN Y CONSTRUCCIÓN DE CÉLULAS CD200+

##### Modelo de *Raji*/PBL

Los ratones NOD.CB17-Prkdc<sup>scid</sup> (Jackson Laboratory) se inyectaron con 200  $\mu$ l de RPM1 que contenía  $4 \times 10^6$  células RAJI (ATCC) s.c. junto con 0, 1, 5 o 10 millones de PBL. Se incluyeron nueve o diez ratones por grupo. Los PBL se aislaron de 250 ml de sangre entera en un gradiente de Histopaque seguido de lisis de glóbulos rojos usando cloruro de amonio al 0,9 %. El crecimiento del tumor se controló tres veces a la semana midiendo la longitud y el ancho con un calibrador. El volumen del tumor se calculó basándose en la longitud x ancho x ancho/2.

Las diferencias entre los grupos que se inyectaron con los PBL en comparación con el grupo que recibió solamente células tumorales se analizaron por ensayo de t de Student para muestras no relacionadas de dos colas. Se observaron diferencias significativas en los grupos que recibieron 5 o 10 millones de PBL, pero no en el grupo que recibió 1 millón de PBL a partir del Día 32 en adelante.

*Modelo de PBL de Namalwa*

Los ratones NOD.CB17-Prkdc<sup>scid</sup> (Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine) se inyectaron con 200 µl de RPMI que contenía  $4 \times 10^6$  de células de Namalwa (ATCC) s.c. junto con 0, 2 o 10 millones de PBL. Se incluyeron 9-10 ratones por grupo. Los PBL se aislaron de 250 ml de sangre completa en un gradiente de Histopaque seguido de insinse glóbulos rojos usando cloruro de amonio al 0,9 %. El crecimiento del tumor se controló tres veces a la semana midiendo la longitud y el ancho con un calibrador. El volumen del tumor se calculó basándose en la longitud x ancho x ancho/2.

*Creación de líneas celulares estables que expresan CD200*

Se generaron líneas de células Raji y Namalwa estables que expresan CD200 usando el Sistema de Expresión Lentiviral Virapower (Invitrogen, Carlsbad, CA). Un ADNc de CD200 se aisló de las células de CLL primarias por RT-PCR usando el cebador directo 5'-GACAAGCTTGCAAGGATGGAGAGGCTGGTGA-3' (SEQ ID NO: 34) y el cebador inverso 5'-GACGGATCCGCCCTTTTCCTCCTGCTTTTCTC-3' (SEQ ID NO: 35). El producto de PCR se clonó en el vector de entrada Gateway, pCR8/GW/TOPO-TA, y los planes individuales se secuencian. Los clones con la secuencia correcta se combinaron en la orientación tanto en sentido como antisentido en los vectores lentivirales pLenti6/V5/DEST y pLenti6/UbC/V5/DEST usando tecnología Gateway (Invitrogen, Carlsbad, CA). La diferencia principal entre estos dos vectores es el promotor usado para conducir la expresión de CD200: pLenti6/V5/DEST contiene el promotor temprano inmediato de CMV humano, mientras que pLenti6/UbC/V5/DEST contiene el promotor de ubiquitina C humano.

Se produjeron soluciones de reserva lentivirales pseudotipadas para VSV-G, de alta titulación mediante cotransfección transitoria de células 293-FT como lo recomienda el fabricante. Las células Raji o Namalwa se transdujeron mediante nueva suspensión de  $10^6$  células en 1 ml de medio de crecimiento que contenía 12 µg/ml de Polybrene y se añadió 1 ml de solución de reserva lentiviral. Después de incubar las células durante una noche a 37 °C, el medio que contenía virus se retiró y se reemplazó con 4 ml de medio recién preparado. Dos días después, las células infectadas se analizaron para expresión de CD200 mediante citometría de flujo. En todos los experimentos,  $\geq 70$  %, las células eran CD200<sup>+</sup>, mientras que CD200 era indetectable en las líneas de células precursoras y en células transducidas con los virus de control negativo (CD200 antisentido).

Para aislar líneas de células clonales que sobreexpresan CD200, las células infectadas se seleccionaron con blasticidina durante 13 días. Las concentraciones de blasticidina usadas fueron 6 µg/ml para células Raji o 2 µg/ml para células Namalwa. A continuación, los clones estables se aislaron limitando la dilución de las células resistentes a blasticidina en placas de 96 pocillos. Los clones se identificaron sistemáticamente en formato de 96 pocillos mediante citometría de flujo usando Mouse CD200 Anti-Humano de Ratón conjugado con PE (clon MRC OX104, Serotec) y un FACSCalibur de BD equipado con un Muestreador de Alto Rendimiento. Después de identificar sistemáticamente un total de clones de 2000 Raji y 2000 Namalwa, esos clones con la expresión de CD200 más elevada se expandieron para caracterización adicional usando técnicas convencionales.

EJEMPLO 1

Eficacia de versiones humanizadas de C2aB7 en el modelo que RAJI\_CD200/PBL

A) Para evaluar si las versiones humanizadas de C2aB7 detienen su eficacia en modelos tumorales *in vivo*, el C2aB7 quimérico (véase la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos con número 2005/0129690) y 3 versiones humanizadas (C2aB7V4V1, C2aB7V3V1 y C2aB7V3V2) así como el anticuerpo de control negativo alxn4100 se sometieron a ensayo en el modelo de RAJI-CD200/PBL. Las células RAJI transducidas con CD200 se inyectaron s.c. en ratones NOD.CB17-Prkdc<sup>scid</sup>, y la capacidad de los PBL para reducir el crecimiento tumoral en presencia o ausencia de anticuerpos C2aB7 quiméricos o humanizados o se evaluó el anticuerpo de control alxn4100 (que no se une a células tumorales). Los anticuerpos a las concentraciones indicadas a continuación se administraron inicialmente con las células tumorales, y a continuación dos veces/semana por i.v. Se establecieron los siguientes grupos con 10 ratones cada uno:

Grupo 1:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c.  
 Grupo 2:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL  
 Grupo 3:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL + 5 mg/kg de C2aB7  
 Grupo 4:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL + 20 mg/kg de C2aB7V4V1  
 Grupo 5:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL + 5 mg/kg de C2aB7V4V1  
 Grupo 6:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL + 20 mg/kg de C2aB7V3V1  
 Grupo 7:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL + 5 mg/kg de C2aB7V3V1  
 Grupo 8:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL + 5 mg/kg de C2aB7V3V2  
 Grupo 9:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL + 20 mg/kg de alxn4100

La longitud y el ancho del tumor se midieron 3 veces a la semana, y el volumen del tumor se calculó con longitud del tumor\*ancho\*ancho/2. La Figura 18 muestra que, como se esperaba, la expresión de CD200 en las células

tumorales evitaba que las células inmunitarias redujeran el crecimiento del tumor. Todas las versiones humanizadas de C2aB7 bloqueaban el crecimiento del tumor en hasta un 97 % a dosis de 20 mg/kg. El anticuerpo de control alxn4100 no influía en el crecimiento tumoral. Estos datos demuestran que todos los anticuerpos humanizados son altamente eficaces en el bloqueo del crecimiento tumoral.

#### B) Evasión inmunitaria con CD200

Aunque el sistema inmunitario humano es capaz de aumentar una respuesta inmunitaria frente a muchos tipos de cáncer, esa respuesta es insuficiente para erradicar el cáncer en la mayoría de los pacientes, debido posiblemente a la evasión inmunitaria a través de la regulación negativa del sistema inmunitario por el tumor. Los inventores identificaron que la molécula inmunosupresora CD200 estaba regulada de forma positiva 1,5-5,4 veces en células de leucemia linfocítica crónica (CLL) en todos los pacientes examinados (n = 80). Se sabe que la interacción de CD200 con su receptor altera los perfiles de citoquina de Th1 a Th2 en reacciones linfocíticas mixtas, y da como resultado la inducción de linfocitos T reguladores, que se cree que obstaculizan la inmunidad de los linfocitos T efectores específicos de tumor. En el presente estudio, los inventores abordaron si la expresión de CD200 en células tumorales desempeña un papel en la evasión inmunitaria, evitando de ese modo la eliminación de células tumorales por el sistema inmunitario en un modelo de xenoinjerto de ratón hu/SCID, y si el tratamiento con un anticuerpo anti-CD200 antagonista influye en el crecimiento del tumor en este modelo.

Las líneas de células de linfoma no Hodgkin humano, RAJI y Namalwa, se transdujeron con CD200 humano y se inyectaron por vía subcutánea junto con linfocitos de sangre periférica humana (PBMC) en ratones NOD/SCID. El crecimiento tumoral en ratones que recibieron células tumorales que expresan CD200 se comparó con el crecimiento tumoral en ratones que recibieron células tumorales que no expresaban CD200 en el tiempo. En experimentos posteriores, los ratones se trataron con anticuerpos anti-CD200 quiméricos o humanizados (intervalo de dosis de 1 mg/kg de a 20 mg/kg) mediante inyección intravenosa. El tratamiento comenzó inmediatamente o 7 días después de la inyección de células tumorales.

Las PBMC redujeron el crecimiento del tumor de RAJI o Namalwa en hasta un 75 % en ausencia de expresión de CD200. Por el contrario, el crecimiento de tumores de RAJI o Namalwa que expresaban CD200 a niveles comparables con CLL no se redujo con las PBMC. La administración de anticuerpos anti-CD200 a 5 mg/kg dio como resultado una inhibición del crecimiento tumoral casi completa (1/10 ratones desarrollaron un tumor pequeño) en el transcurso del estudio incluso cuando el tratamiento comenzaba 7 días después de la inyección de células tumorales.

La presencia de CD200 humano en células tumorales inhibe la capacidad de los linfocitos humanos para erradicar las células tumorales. El tratamiento de tumores que expresan CD200 con anticuerpos anti-CD200 antagonistas inhibe el crecimiento tumoral, lo que indica el potencial para la terapia anti-CD200 como un enfoque prometedor para la CLL.

#### C) Eficacia de C2aB7G1 con respecto a construcciones de C2aB7G2/G4

Para evaluar si los anticuerpos anti-CD200 sin función efectora (construcciones de fusión de G2/G4 de C2aB7 como se describe a continuación) son igualmente o más eficaces que las construcciones de G1, se sometieron a ensayo las versiones G1 y G2/G4 así como la versión humanizada de C2aB7 (alxn5200) en el modelo de Raji\_CD200/PBL. Las células RAJI transducidas con CD200 como se ha descrito anteriormente se inyectaron por s.c. en ratones NOD.CB17-Prkdc<sup>scid</sup>, y se evaluó la capacidad de los PBL para reducir el crecimiento tumoral en presencia o ausencia de anticuerpos c2aB7G1 anti-CD200 quiméricos (c2aB7), c2aB7G2/G4 o las versiones humanizadas, hC2aB7V3V1G1 (V3V1), o hC2aB7V3V2G1 (V3V2), o anticuerpo de control alxn4100. Los anticuerpos a concentraciones indicadas a continuación se administraron inicialmente con las células tumorales y a continuación dos veces/semana por i.v. Se establecieron los siguientes grupos con 10 ratones cada uno:

- Grupo 1:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c.
- Grupo 2:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL
- Grupo 3:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL + 20 mg/kg de hV3V2-G1
- Grupo 4:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL + 5 mg/kg de alxn 5200
- Grupo 5:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL + 2,5 mg/kg de alxn 5200
- Grupo 6:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL + 1 mg/kg de alxn 5200
- Grupo 7:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL + 20 mg/kg de chC2aB7G2/G4
- Grupo 8:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL + 5 mg/kg de chC2aB7G2/G4
- Grupo 9:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL + 2,5 mg/kg de chC2aB7G2/G4
- Grupo 10:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL + 1 mg/kg de chC2aB7G2/G4
- Grupo 11:  $4 \times 10^6$  RAJI\_CD200 por s.c. +  $6 \times 10^6$  PBL + 20 mg/kg de alxn4100

La longitud y el ancho del tumor se midieron tres veces a la semana, y el volumen del tumor se calculó con longitud del tumor\*ancho\*ancho/2. La Figura 19 muestra que, como se esperaba, la expresión de CD200 en las células tumorales evitaba que las células inmunitarias redujeran el crecimiento del tumor. Sin embargo, la adición de

anticuerpos anti-CD200 reducía el volumen del tumor en hasta un 100 %. Aunque 20 mg/kg de C2aB7G1 daban como resultado el crecimiento de pequeños tumores en 6/10 ratones, solamente a 1 ratón decrecieron tumores en el grupo tratado con 20 mg/kg de C2aB7G2/G4, lo que sugiere que la versión de G2/G4 podría dar como resultado una eficacia mejor o al menos igual que la de la versión G1. Todos los anticuerpos anti-CD200, incluyendo las versiones humanizadas, bloqueaban completamente el crecimiento del tumor a 5 mg/kg. El tratamiento con el anticuerpo de control no reducía el crecimiento del tumor. Estos datos demuestran que la versión de G2/G4 de C2aB7 es altamente eficaz en el bloqueo del crecimiento del tumor de tumores que expresan CD200. Estos datos confirman adicionalmente que las versiones humanizadas de C2aB7 son altamente eficaces en el bloqueo del crecimiento del tumor en este modelo.

#### D) Generación de la construcción de G2/G4

Los plásmidos se alteraron en dos etapas, en primer lugar reemplazando la región de IgG1 de un sitio Age I en la región CH1 humana a través del codón de parada a un sitio BamH I localizado después de la señal poli A de SV40. C2aB7-6 y cC7 G2G4 (anticuerpo L-SIGN) se digirieron con Age I y BamH I, y C2aB7-6 se trató con CIP. Un fragmento de 10.315 pb de C2aB7-6 y un fragmento de 1752 pb de cC7 G2G4 se purificaron por electroforesis y extracción en gel. Estos fragmentos se ligaron, se sometieron a electroporación en XL1 Blue *E. coli*, y se sembraron en placas LB/carb/gluc. Las colonias se cultivaron en solución y el ADN se aisló usando columnas de miniprep de Qiagen. La presencia del fragmento Age I/BamH I de IgG2G4, en oposición al fragmento de IgG1, se determinó mediante digestión con Pvu II que da como resultado la presencia de dos bandas de 267 y 1152 pb en oposición a una banda de 1419 pb. El clon 21 se seleccionó para su uso adicional.

El resto de la región CH1 desde el extremo de la región variable al sitio Age I se generó en un formato de IgG2/G4 by usando PCR de solapamiento. El fragmento de PCR que contenía el comienzo de la región CH1 a través del sitio Age I se había generado previamente en la producción del plásmido cC7 G2G4. Los cebadores C7mhHF (TCCTCAGCCTCCACCAAGGGCC, SEQ ID NO: 1) y Rev Age Pri (GGGCGCCTGAGTTCCACGAC, SEQ ID NO: 2) se usaron en una reacción de PCR con G2G4 63L1D como molde para generar un fragmento de 142 pb. Los cebadores C2aB7 rev (GGCCCTTGGTGGAGGCTGAGGAACTGTGAGAGTGGTGC, SEQ ID NO: 3) y lacpri (GCTCCCGGCTCGTATGTTGTGT, SEQ ID NO: 4) se usaron con Fab C2aB7 como molde para generar la región variable de cadena pesada de murino (y material cadena arriba) en un fragmento de aproximadamente 1250 pb. Estos fragmentos se purificaron por electroforesis y extracción en gel y se usaron en PCR de solapamiento con los cebadores Rev Age Pri (GGGCGCCTGAGTTCCACGAC, SEQ ID NO: 2) y LeadVHpAX (ATATGAAATATCTGCTGCCGACCG, SEQ ID NO: 5) para generar un fragmento de 558 pb que se purificó en una columna de purificación de PCR. Este fragmento de 558 pb y el clon 21 se digirieron con Xho I y Age I para generar un fragmento de 458 pb que se purificó por electroforesis y extracción en gel. El clon 21 también se digirió con Xho I y Age I, se trató con CIP, y un fragmento de 11,6 kb se purificó por electroforesis y extracción en gel. Estos fragmentos se ligaron y se sometieron a electroporación en XL1 Blue *E. coli* y se sembraron en placas LB/carb/gluc. Se observó que el clon C2aB7G2G4.11 presentaba los fragmentos de restricción esperados cuando se digería con Pvu II.

La construcción final, C2aB7G2G4.11 se secuenció. Se descubrió que el codón de parada, TAA, de la cadena ligera se había mutado a la secuencia TCA de modo que una cantidad adicional de 6 aminoácidos se podrían añadir al extremo en la posición carboxi terminal de la cadena ligera. Se encontró que estaba presente en el clon C2aB7-6 de la versión de IgG1 que era el precursor para C2aB7G2G4.11. Los anticuerpos que contienen la construcción de G2G4 se representan en las Figs 10, 11, 12, 13, y 15.

#### EJEMPLO 2

Expresión de CD200 en células cancerosas

##### A. Determinación de la regulación positiva de CD200 en pacientes con CLL

Los linfocitos de 15 pacientes con CLL se tiñeron con anti-CD5 conjugado con FITC (e-bioscience), anti-CD19 conjugado con APC (e-bioscience) y anti-CD200 conjugado con PE (Serotec). Los linfocitos de donantes sanos que tiñeron en consecuencia. La expresión de CD200 en células CD5+CD19+ se determinó. Como se muestra en la Fig. 20, aunque el nivel de expresión de CD200 variaba entre muestras de pacientes con CLL, todas las muestras de CLL presentaban niveles elevados (intervalo de 1,6-4 veces) de expresión de CD200 más elevada en comparación con la expresión de CD200 en linfocitos B normales. Los pacientes con CLL que presentaban niveles elevados de expresión de CD200 se seleccionan para tratamiento anti-CD200 de acuerdo con los métodos que se describen en el presente documento.

##### B. Análisis de FACS en líneas de células de cáncer

La expresión de CD200 se evaluó mediante análisis de FACS usando un panel de líneas de células NCI60 de pacientes con melanoma, pacientes con cáncer de próstata, pacientes con glioblastoma, pacientes con astrocitoma, pacientes con neuroblastoma, pacientes con cáncer de ovario, pacientes con cáncer de pulmón y pacientes con

cáncer renal. El C2aB7 se etiquetó con Zenon-Alexa488 de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Invitrogen). De medio millón a 1 millón de células se tiñeron con 1 µg del anticuerpo etiquetado durante 20 min, seguido de un lavado con PBS. La tinción celular se evaluó usando un FACSCalibur (Becton Dickinson). La tinción de las células etiquetadas con anticuerpos se comparó con las muestras que permanecían sin etiquetar y se determinó la proporción de células teñidas/sin teñir. En la Fig. 21, una proporción superior a 1 pero inferior a 2 se indica como +/-, una proporción entre 2 y 3 es +, entre 3 y 10 es ++, >10 es +++. Ninguna de las líneas celulares sometidas a ensayo para glioblastoma, astrocitoma, cáncer de próstata o pulmón expresaban CD200, y no se indican a continuación. Cuatro de 5 líneas de células de melanoma, 2/2 líneas de células de cáncer de ovario, 2/3 líneas de células renales, 2/2 líneas de células de neuroblastoma y 1/3 líneas de células de cáncer de mama sometidas a ensayo expresaban CD200 a niveles detectables en la superficie celular, lo que sugiere que algunos tumores sólidos también podrían usar CD200 como un mecanismo de escape inmunitario.

#### C. RT-OPCR en muestras de pacientes

Para verificar si CD200 está regulado de forma positiva no solamente en líneas celulares, sino también en muestras de pacientes primarios, se realizaron RT-QPCR e inmunohistoquímica (IHC) en muestras de pacientes primarios. Las muestras de ARNm de pacientes con cáncer de ovario y melanoma se obtuvieron a partir de Cytomix. El ADNc se preparó y las muestras se diluyeron a 1:100 y 1:1000 en 10 ng/ml de ARNr de levadura. Las muestras se desarrollaron para QPCR con ensayo de CD200 de Hs00245978\_ml como se proporciona por ABI. Para normalización de 18S, el ensayo de 18S (ABI) se desarrolló con muestras diluidas a 1:10.000. Cada dilución se realizó por duplicado. Las muestras de paciente de con cáncer ovario y melanoma, junto con muestras de paciente con CLL se normalizaron a 18S, a continuación se determinó el número de veces de expresión con respecto a PBL normal. La Figura 22 muestra la expresión de CD200 en muestras de cáncer de ovario. Parece que las muestras serosas/metastásicas serosas/papilares serosas tienen la expresión de CD200 más elevada de aproximadamente 10 a 20 veces más elevada que el PBL normal. La expresión de CD200 era relativamente baja en muestras de células endometrioides, mucinosas, y de células transparentes, todas a o por debajo de los niveles de expresión de ovarios normales (1-5 veces más elevadas que el PBL normal). La Fig. 23 muestran los niveles de expresión de CD200 de varias muestras de metástasis de melanoma: yeyuno, intestino delgado, ganglio linfático, pulmón, piel, y cerebro). Varias de estas muestras se emparejan como normal/tumor, indicado por el número (-1 par o -2 par). Otras muestras adicionales sin normales emparejadas también se desarrollaron para comparación. Las muestras de yeyuno mostraban niveles de expresión de CD200 significativamente más elevados que el órgano normal, con las muestras metastáticas aproximadamente 4-7 veces más elevadas que las de yeyuno normal.

#### D. Inmunohistoquímica en muestras de paciente primario

IHC se realizó en 2 muestras de pacientes de melanoma congelado (LifeSpan). Los fragmentos D1B5 y C2aB7 de Fab se usaron para tinción. Un anticuerpo de IgG1 se usó como control de isotipo. La unión de los anticuerpos primarios se detectó con un anticuerpo secundario anti-ratón y cromógeno con DAB.

Como se muestra en la Figura 24, ambas muestras de melanoma sometidas a ensayo presentaban fuerte tinción de la membrana con los anticuerpos anti-CD200, pero ninguna tinción con el control de isotipo. El tejido de piel normal no presentaba tinción de CD200. Estos datos demuestran que CD200 no está solamente regulado de forma positiva en líneas de células de melanoma y de cáncer de ovario, sino también en muestras de pacientes primarios.

#### E. Evasión inmunitaria de células de melanoma y de tumor de ovario a través de regulación positiva de la molécula inmunosupresora CD200

El escape inmunitario es una característica fundamental de la evolución del cáncer. Los tumores se pueden escapar del sistema inmunitario mediante múltiples mecanismos, cada uno una barrera significativa para inmunoterapia. La puesta en práctica de formas nuevas y más eficaces de inmunoterapia requerirá la comprensión de estos procesos así como sus similitudes y diferencias a través de los cánceres. Los inventores identificaron anteriormente que la molécula CD200 inmunosupresora estaba regulada de forma positiva en células de leucemia linfocítica crónica. La presencia de CD200 regular de manera negativa la producción de la citoquina Th1 requerida para una después la ciclar a linfocitos T citotóxicos. Los inventores demostraron en modelos animales que la expresión de CD200 por células tumorales humanas evita que los linfocitos humanos rechacen el tumor, y el tratamiento con un anticuerpo anti-CD200 antagonista inhibía el crecimiento tumoral. En este estudio, los inventores evaluaron si la regulación de forma positiva de CD200 se encuentra en otros cánceres, y si la expresión de CD200 en estas células influye en la respuesta inmunitaria.

Los niveles relativos de mensaje de CD200 se cuantificaron por RT-QPCR en muestras de pacientes con metástasis de adenocarcinoma de ovario (seroso/metastático seroso/seroso papilar, endometrioide, mucinoso, células transparentes) y con metástasis de melanoma maligno.

La expresión de CD200 en la superficie celular se evaluó con IHC en dos muestras de tejido congelado de pacientes con melanoma y tres con carcinoma de ovario (seroso) en comparación con piel normal y ovarios normales. La expresión de CD200 en la superficie de la célula de las líneas de células SK-MEL-5, SK-MEL-24 y SK-MEL-28 de

cáncer melanoma y la línea de células de cáncer de ovario, OVCAR-3, se evaluó con análisis de FACS usando un anticuerpo anti-CD200 etiquetado con PE. El efecto de las líneas de células de cáncer que expresan CD200 en el perfil de citoquina mezclado en reacciones linfocitarias se evaluó mediante la adición de células a un cultivo de células dendríticas derivadas de monocitos humanos con linfocitos T humanos alogeneicos. La producción de citoquinas (IL-2 e IFN- $\gamma$  para Th1, IL4 e IL10 para Th2) se detectó en el sobrenadante mediante ELISA.

La PCR cuantitativa mostraba niveles de expresión de CD200 en muestras de adenocarcinoma de ovario seroso a un nivel hasta 20 veces más elevado que el PBL normal, el igual a o hasta 4 veces más elevado que en el ovario normal. La expresión de CD200 estaba a o por debajo de los niveles de ovario normal en muestras de adenocarcinoma de ovario endometriode, mucinoso, y de células transparentes. En metástasis de melanoma maligno al yeyuno, parecía que los niveles de expresión de CD200 eran significativamente más elevados que los de las muestras normales. En las metástasis de pulmón de melanoma maligno, 2/6 presentaban expresión de CD200 más elevada que en las muestras normales.

IHC presentaba tinción de CD200 asociada con la membrana, específica, fuerte en células malignas de ambos pacientes con melanoma. La muestra de piel normal presentaba una tinción débil de células endoteliales. Entre tres pacientes con cáncer de ovario, uno presentaba una tinción de CD200 fuerte, uno la presentaba moderadamente positiva, y una presentaba subconjuntos de células tumorales débilmente teñidas. En los tres casos, el estroma presentaba una tinción fuerte.

CD200 estaba altamente expresado en la superficie celular de las líneas de células de cáncer melanoma, SK-MEL-24 y SK-MEL-28, así como en la línea OVCAR-3 de células de cáncer de ovario, y estaba expresado de forma moderada en la línea de células de melanoma SK-MEL-5. La adición de cualquiera de estas líneas celulares a una reacción linfocitaria mixta regulaba de manera negativa la producción de citoquinas Th1, mientras que las líneas de células que no expresaban CD200 no lo hacían. Lo que demuestra una correlación directa. La inclusión de un anticuerpo anti-CD200 antagonista durante el cultivo anulaba el efecto.

Las células de melanoma y de tumor de ovario pueden regular de forma positiva a CD200, suprimiendo de este modo de forma potencial una respuesta inmunitaria eficaz. La terapia con un anti-CD200 antagonista podría permitir que el sistema inmunitario aumentara una respuesta citrato si cae eficaz frente a las células tumorales.

#### F. Efecto de líneas de células de cáncer, que expresan CD200 en perfiles de citoquina en reacciones linfocitarias mixtas

La capacidad de las células que sobreexpresan CD200 para desplazar la respuesta de las citoquinas a partir de una respuesta de TH1 (IL-2, IFN- $\gamma$ ) a una respuesta de Th2 (IL-4, IL-10) se evaluó en una reacción linfocitaria mixta. Como una fuente de células que expresan CD200, se usaron cualquiera de células transfectadas con CD200 o células de líneas de células de cáncer positivas para CD200.

Las reacciones linfocitarias mixtas se desarrollaron en placas de 24 pocillos usando 250.000 células dendríticas maduras a partir de monocitos periféricos humanos usando IL-4, GM-CSF e IFN- $\gamma$  y  $1 \times 10^6$  células que responden. Las células que responden eran linfocitos enriquecidos con linfocitos T purificados a partir de sangre periférica usando Ficoll. Los linfocitos T se enriquecieron incubando las células durante 1 hora en Matrices de cultivo celular y tomando la fracción de células no adherentes. 500.000 células de las líneas de células de cáncer melanoma, SK-MEL-1, SK-MEL-24, SK-MEL-28, la línea de células de cáncer de ovario OVCAR3 y la línea de células de linfoma no Hodgkin Namalwa o células de CLL primaria como control positivo se añadieron a las células dendríticas en presencia o ausencia de 30  $\mu$ g/ml de anticuerpo anti-CD200. Los sobrenadantes se recogieron después de 48 y 68 horas y se analizaron para la presencia de toxinas.

Las citoquinas tales como IL-2, IFN- $\gamma$ , e IL-10 encontradas en el sobrenadante de cultivo tisular se cuantificaron usando ELISA. Los pares de anticuerpos de captura y detección emparejados para cada citoquina se obtuvieron en R+D Systems (Minneapolis, MN), y una curva patrón para cada citoquina se produjo usando citoquina humana recombinante. El anticuerpo de captura anti-citoquina se revistió en la placa en PBS a la concentración óptima. Después de un periodo de incubación de una noche, las placas se lavaron y se bloquearon durante 1 hora con PBS que contenía BSA al 1 % y sacarosa al 5 %. Después de 3 lavados con PBS que contenía Tween al 0,05 %, los sobrenadantes se añadieron a funciones de dos veces o diez veces en PBS que contenía BSA al 1 %. Las citoquinas capturadas se detectaron con el anticuerpo anti-citoquina biotinilado apropiado seguido de la adición de estreptavidina conjugada con fosfatasa alcalina y sustrato SigmaS. El desarrollo del color se evaluó con un lector de placas de ELISA (Molecular Devices).

Como se muestra en la Figura 25A, la presencia de líneas celulares con expresión de CD200 elevada (MEL-24, MEL-28, OVCAR-3) dio como resultado la regulación de forma negativa de las citoquinas es Th1 tales como IL-2 e IFN- $\gamma$ . Por el contrario, la adición de MEL-1 (expresión de CD200 baja) o Namalwa (sin expresión de CD200) no influyen en el perfil de citoquina. La adición del anticuerpo anti-CD200, hB7VH3VL2, a 50  $\mu$ g/ml restablecía completamente la respuesta de Th1 (Figura 25B), lo que indica que el tratamiento de pacientes con melanoma o cáncer de ovario con el anticuerpo anti-CD200 podría ser terapéuticamente beneficioso.

EJEMPLO 3

Eliminación de linfocitos T activados por C2aB7-G1 y sus derivados

- 5 Para evaluar si el tratamiento anti-CD200 tiene un efecto en un modelo de cáncer usando células tumorales que no expresan CD200, se inyectaron células Namalwa y PBL humanas en ratones NOD/SCID, y los ratones se trataron como se detalla a continuación. En este modelo, CD200 sólo está presente en células inmunitarias que expresan CD200 de forma natural tal como linfocitos B y linfocitos auxiliares T foliculares.

10 Diseño del grupo

10 animales/grupo

- Grupo 1:  $4 \times 10^6$  Namalwa s.c.  
 15 Grupo 2:  $4 \times 10^6$  Namalwa s.c. +  $8 \times 10^6$  PBL  
 Grupo 3:  $4 \times 10^6$  Namalwa s.c. +  $8 \times 10^6$  PBL + 20 mg/kg de hV3V2-G1  
 Grupo 4:  $4 \times 10^6$  Namalwa s.c. +  $8 \times 10^6$  PBL + 5 mg/kg de hV3V2-G1  
 Grupo 5:  $4 \times 10^6$  Namalwa s.c. +  $8 \times 10^6$  PBL + 2,5 mg/kg de hV3V2-G1  
 Grupo 6:  $4 \times 10^6$  Namalwa s.c. +  $4 \times 10^6$  PBL  
 20 Grupo 7:  $4 \times 10^6$  Namalwa s.c. +  $8 \times 10^6$  PBL + 20 mg/kg de chC2aB7-G2G4  
 Grupo 8:  $4 \times 10^6$  Namalwa s.c. +  $8 \times 10^6$  PBL + 5 mg/kg de chC2aB7-G2G4  
 Grupo 9:  $4 \times 10^6$  Namalwa s.c. +  $8 \times 10^6$  PBL + 2,5 mg/kg de chC2aB7-G2G4  
 Grupo 10:  $4 \times 10^6$  Namalwa s.c. +  $4 \times 10^6$  PBL + 20 mg/kg de chC2aB7-G2G4  
 Grupo 11:  $4 \times 10^6$  Namalwa s.c. +  $8 \times 10^6$  PBL + 20 mg/kg de alxn4100

- 25  $1/10^{\circ}$  de la dosis estaba incluida en la mezcla de inyección. La dosificación posterior fue 2x/semana por i.v. durante 3 semanas.

- La longitud (L) y el ancho (A) del tumor se midieron 3 veces/semana y los volúmenes del tumor se calcularon con  $L \cdot A \cdot A/2$ . La Figura 26 muestra que, como se ha establecido anteriormente, la inyección simultánea de PBL humanos con células Namalwa inhibe el crecimiento del tumor. No se observó efecto de chC2aB7-G2G4 en la inhibición del crecimiento del tumor mediado por PBL. Por el contrario, la administración de ALXN5200 (hB7VH3VL2-G1) bloqueaba la inhibición del crecimiento del tumor mediado por PBL. En ausencia de CD200 en las células tumorales, parece que el tratamiento con anticuerpo anti-CD200 con un anticuerpo que media la función efectora tal como algunas construcciones de G1, se eliminan células receptoras fundamentales en la población de PBL. Estos datos sugieren que la terapia para el cáncer anti-CD200 es menos eficaz cuando se está usando un anticuerpo con función efectora en comparación con el uso del anticuerpo sin función efectora. Sin embargo, el tratamiento anti-CD200 usando una construcción con función efectora podría ser terapéuticamente beneficioso en situaciones en las que se desea la eliminación de células inmunitarias tal como en el entorno de trasplantes o enfermedades autoinmunitarias.

EJEMPLO 4

Eliminación de linfocitos T con hB7VH3VL2

- 45 Para evaluar si la incubación de linfocitos T activados con anticuerpos anti-CD200 que contienen una región constante que media la función efectora (por ejemplo G1) da como resultado la eliminación de los linfocitos T, los linfocitos T se activaron y se desarrollaron ensayos de eliminación como se describe a continuación.

50 A). Aislamiento de linfocitos T CD3+

- Los linfocitos de sangre periférica humana (PBL) se obtuvieron a partir de voluntarios sanos normales mediante centrifugación por gradiente de densidad de sangre heparinizada usando el Sistema Accuspin™. Se añadieron quince ml de Histopaque-1077 (Sigma, St. Louis, MO; n.º de cat H8889) se añadió a cada tubo Accuspin (Sigma, St. Louis, MO; n.º de cat A2055) que a continuación se centrifugó a 1500 rpm durante 2 minutos de modo que se permitió que el Histopaque pasara a través de la frita. Treinta ml de sangre completa se depositaron en capas sobre la frita y los tubos se centrifugaron durante 15 minutos a 2000 rpm a temperatura ambiente sin freno. La superficie de contacto de PBL se recogió y las células mononucleares se lavaron dos veces en PBS con suero bovino fetal inactivado con calor al 2 % (FBS) (Atlas Biologicals, Ft. Collins, CO; n.º de cat F-0500-D) con una centrifugación de 1200 rpm durante 10 minutos. Los linfocitos T D3+ se aislaron mediante pasaje sobre una columna HTCC-5 (R&D Systems) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las células eluidas se lavaron, se hizo recuento y se volvieron a suspender en RPMI 1640 que contenía suero de donante individual inactivado por calor al 5 %, L-glutamina 2 mM, Hepes 10 mM y penicilina/estreptomicina.

65

B. Activación con mOKT3 unido a placa

Los pocillos de placas de 12 pocillos (Falcon) se revistieron con un periodo de incubación de una noche a 4 °C con 10 µg/ml de mOKT3 (Orthoclone) diluido en PBS. El anticuerpo residual se retiró y las placas se aclararon minuciosamente con PBS. Los linfocitos T CD3+ purificados, aislados como se ha descrito anteriormente, se añadieron a las placas a una concentración final de  $2 \times 10^6$ /pocillo en RPMI 1640 que contenía suero de donante individual inactivado por calor al 5 %, L-glutamina 2 mM, Hepes 10 mM y penicilina/estreptomicina. Las células se mantuvieron durante 72 horas a 37 °C en una incubadora unificada que contenía CO<sub>2</sub> al 5 %.

C. Etiquetado con <sup>51</sup>Cr de células diana CD3+ activadas con mOKT3

Al final del periodo de cultivo, las células CD3+ activadas con mOKT3 se cosecharon, se lavaron y se volvieron a suspender a  $10^7$  células/ml en RPMI 1640 sin suero. Las células se sometieron a cromo mediante la adición de 125 µCi de <sup>51</sup>Cr (Perkin Elmer, Billerica, MA)/ $10^6$  células durante 2 horas a 37 °C. Las células etiquetadas se cosecharon, se lavaron en RPMI que contenía suero de donante individual inactivado por calor al 5 % y se volvieron a suspender a una concentración final de  $2 \times 10^5$  células/ml en el mismo medio.

D. Preparación de linfocitos NK efectores autólogos

Los linfocitos de sangre periférica humana (PBL) del mismo individuo se obtuvieron como se ha descrito anteriormente mediante centrifugación por gradiente de densidad. La superficie de contacto de PBL se recogió y las células mononucleares se lavaron dos veces en PBS con suero bovino fetal inactivado con calor al 2 % (FBS) (Atlas Biologicals, Ft. Collins, CO; n.º de cat F-0500-D) con una centrifugación de 1200 rpm durante 10 minutos. Las células CD56+ se aislaron mediante selección positiva sobre perlas magnéticas conjugadas con anti-CD56 (Miltenyi Biotec, Auburn, CA, n.º de cat 120-000-307) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las células eluidas se lavaron, se hizo recuento y se volverán a suspender a  $1,3 \times 10^6$  células/ml en RPMI 1640 que contenía suero de donante individual inactivado por calor al 5 %, L-glutamina 2 mM, Hepes 10 mM y penicilina/estreptomicina. Las células se incubaron durante una noche a 37 °C en una incubadora unificada que contenía CO<sub>2</sub> al 5 % a una concentración final de  $4 \times 10^6$  células/pocillo en 3 ml del mismo medio. Al final del periodo de cultivo, las células se cosecharon, se lavaron, se hizo recuento, y se volvieron a suspender en medio que contenía RPMI sin suelo, L-glutamina 2 mM, Hepes 10 mM,  $2 \times 10^{-5}$  M 2-mercaptoetanol y penicilina/estreptomicina.

E. Ensayo de ADCC

Las células CD3+ diana activadas con mOKT3 etiquetadas con <sup>51</sup>Cr preparadas como se ha descrito anteriormente se distribuyeron en pocillos de una placa de 96 pocillos a  $10^4$  células/pocillos en 50 µl. Las células efectoras CD56+ se cosecharon, se lavaron, se hizo recuento y se volvieron a suspender a cualquiera de  $2,5 \times 10^6$  células/ml (para una proporción de célula efectora:diana de 25:1) o  $10^6$  células/ml (para una proporción de célula efectora:diana de 10:1) y se distribuyeron (100 µl/pocillo) a pocillos que contenían las células diana. Se añadieron diluciones de diez veces de anticuerpos anti-CD200 (V3V2-G1 o V3V2-G2/G4) a las células efectoras y dianas para concentraciones finales de 10, 1, 0,1 y 0,01 µg/ml. Los controles de ensayo incluyan los siguientes: 1) efectores y dianas en ausencia de anticuerpo (0 Ab); 2) células diana en ausencia de efectores (lisis espontánea) y 3) efectores y dianas incubados con Tween-80 al 0,2 % (liberación máxima). Todas las condiciones de cultivo celular se realizaron por triplicado. Las células se incubaron a 37 °C durante 4 horas en una incubadora unificada que contenía CO<sub>2</sub> al 5 %. Al final del periodo de cultivo, las placas se centrifugaron para sedimentar las células y 150 µl de sobrenadante celular se transfirió desde centelleo físico recuento en un contador de centelleo gamma (Wallac). Los resultados se expresan como porcentaje de crisis específica de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$(\text{Recuentos medios por minuto de la muestra (cpm)} - \text{lisis espontánea media}) \times 100$$

$$(\text{lisis máxima media} - \text{lisis espontánea media})$$

F. Citometría de flujo

Cien µl de suspensiones celulares (células CD3+ activadas con mOKT3 o linfocitos NK CD56+ purificados) preparados como se ha descrito anteriormente se distribuyeron a los pocillos de una placa de fondo redondo de 96 pocillos (Falcon, Franklin Lakes NJ; n.º de cat 353077). Las células se incubaron durante 30 minutos a 4 °C con las combinaciones indicadas de los siguientes: anticuerpos conjugados con isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE), PerCP-Cy5.5, o alofocianina (APC) (todos de Becton-Dickinson, San Jose, CA); CD25-FITC anti-humano (n.º de cat 555431); CD3-APC anti-humano (n.º de cat 555335); CD200-PE anti-humano (n.º de cat 552475); CD8-PerCP-Cy5.5 anti-humano (n.º de cat 341051); CD4-APC anti-humano (n.º de cat 555349); CD5-APC anti-humano (n.º de cat 555355) y CD56-APC anti-humano (n.º de cat 341025). Los controles de isotipo para cada anticuerpo etiquetado también se incluyeron. Después de lavar las células dos veces con tampón FACS (centrifugación de 1800 rpm durante 3 minutos), las células se volvieron a suspender en 300 µl de PBS (Mediatech,

Herndon, VA; n.º de cat 21-031-CV) y se analizaron mediante citometría de flujo usando una máquina FACS Caliber y el software CellQuest (Becton Dickinson, San Jose, CA).

Como se muestra en la Figura 27, los linfocitos T activados muestran una expresión de CD200 elevada en su superficie. Los linfocitos T activados se eliminan de forma eficaz en presencia de VH3VL2-G1 pero no con VH3VL2-G2G4 cuando los linfocitos NK se usan como células efectoras (Figura 28). Estos datos demuestran que los anticuerpos anti-CD200 con función efectora pueden eliminar los linfocitos T activados. Un anticuerpo de este tipo podría tener un uso terapéutico en el entorno de trasplantes o para el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias.

Además de los linfocitos T reguladores, se ha mostrado que las células dendríticas plasmacitoides desempeñan un papel en la inmunoregulación negativa en cáncer humano (Wei S, Kryczek I, Zou L, Daniel B, Cheng P, Mottram P, Curiel T, Lange A, Zou W Plasmacytoid dendritic cells induce CD8+ regulatory T cells in human ovarian carcinoma. Cancer Res. 15 de junio de 2005; 65 (12): 5020-6). Por lo tanto, una combinación de una terapia que elimina las células dendríticas plasmacitoides con terapia anti-CD200 podría ser ventajosa.

#### EJEMPLO 5

##### CD200 en células plasmáticas

Las células de médula ósea de 10 pacientes con mieloma múltiple y 3 donantes normales se prepararon pisando en primer lugar los glóbulos rojos usando cloruro de amonio. Las células se volvieron a suspender en tampón FACS y se etiquetaron con los siguientes cócteles de anticuerpo:

- Kappa-FITC/CD38-PE/CD138-PerCP-Cy5.5
- Lambda-FITC/CD38-PE/CD138-PerCP-Cy5.5
- Control de Isotipo-FITC/CD38-PE
- CD200-FITC/CD38-PE

Los datos se recogieron usando un BD FACS Canto y se analizaron usando el software DiVA de BD. La expresión de CD200 en células brillantes CD38 (células plasmáticas) se analizó. Como se muestra en la Fig. 29, una parte de las células plasmáticas se expresa CD200 a densidad elevada en donantes normales. En pacientes con mieloma múltiple, la mayoría de las células plasmáticas expresan CD200.

En el entorno del mieloma múltiple, al igual que CLL u otros cánceres que expresan CD200, la expresión de CD200 por células tumorales podría evitar que el sistema inmunitario erradicar a las células tumorales. Posteriormente, la terapia anti-CD200 antagonista podría permitir que el sistema inmunitario elimine las células cancerosas. La terapia anti-CD200 de ablación que se dirige a células plasmáticas podría ser terapéuticamente beneficiosa en el entorno autoinmunitario o de trasplante.

#### EJEMPLO 6

##### CD200 en virus

CD200 también se expresa en una serie de virus tales como virus M141R de mixoma o virus 8 del herpes humano. Al igual que la expresión de CD200 en células tumorales, CD200 en virus podría evitar que el sistema inmunitario eliminara de forma eficaz del virus. El tratamiento con un anticuerpo anti-CD200 antagonista podría ser terapéuticamente beneficioso en una infección con un virus que expresa CD200, permitiendo que el sistema inmunitario erradique el virus. Como alternativa, se podría usar un anticuerpo anti-CD200 de ablación.

Se entenderá que se pueden realizar diversas modificaciones en las realizaciones desveladas en el presente documento. Por ejemplo, se observarán los expertos en la materia, las secuencias específicas descritas en el presente documento se pueden alterar ligeramente sin influir necesariamente de forma adversa en la funcionalidad del polipéptido, anticuerpo o fragmento de anticuerpo usado en la unión a OX-2/CD200. Por ejemplo, frecuentemente se pueden realizar funciones de uno o múltiples aminoácidos en la secuencia del anticuerpo sin destruir la funcionalidad del anticuerpo o fragmento. Por lo tanto, se debería entender que algunos polipéptidos o anticuerpos que tienen un grado de identidad superior a un 70 % con respecto a los anticuerpos específicos descritos en el presente documento están dentro del alcance de la presente divulgación. En realizaciones particularmente útiles, se contemplan algunos anticuerpos que tienen una identidad superior a aproximadamente un 80 % con respecto a los anticuerpos específicos descritos en el presente documento. En otras realizaciones útiles, se contemplan los anticuerpos que tienen una identidad superior a aproximadamente un 90 % con respecto a los anticuerpos específicos descritos en el presente documento. Por lo tanto, la descripción mencionada anteriormente no se debería interpretar como limitante, sino simplemente como ejemplos de realizaciones preferentes. Los expertos en la materia concebirán otras modificaciones dentro del alcance y espíritu de la presente divulgación.

## REFERENCIAS

- 1) Agarwal, *et al.*, (2003). Disregulated expression of the Th2 cytokine gene in patients with intraoral squamous cell carcinoma. *Immunol Invest* 32: 17-30.
- 2) Almasri, NM *et al.*, (1992). *Am J Hemato* 140 259-263.
- 3) Contasta, *et al.*, (2003). Passage from normal mucosa to adenoma and colon cancer: alteration of normal sCD30 mechanisms regulating TH1/TH2 cell functions. *Cancer Biother Radiopharm* 18: 549-557.
- 4) Gorczynski, *et al.*, (1998). Increased expression of the novel molecule OX-2 is involved in prolongation of murine renal allograft survival. *Transplantation* 65: 1106-1114.
- 5) Gorczynski, *et al.*, (2001). Evidence of a role for CD200 in regulation of immune rejection of leukaemic tumour cells in C57BL/6 mice. *Clin Exp Immunol* 126: 220-229.
- 6) Hainsworth, JD (2000). *Oncologist* 2000; 5 (5): 376-84.
- 7) Inagawa, *et al.*, (1998). Mechanisms by which agentes quimioterapéuticos augment the antitumor effects of tumor necrosis factor: involvement of the pattern shift of cytokines from Th2 to Th1 in tumor lesions. *Anticancer Res* 18: 3957-3964.
- 8) Ito, *et al.*, (1999). Lung carcinoma: analysis of T helper type 1 and 2 cells and T cytotoxic type 1 and 2 cells by intracellular cytokine detection with flow cytometry. *Cancer* 85: 2359-2367.
- 9) Kiani, *et al.*, (2003). Normal intrinsic Th1/Th2 balance in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia not treated with interferon-alpha or imatinib. *Haematologica* 88: 754-761.
- 10) Lauerova, *et al.*, (2002). Malignant melanoma associates with Th1/Th2 imbalance that coincides with disease progression and immunotherapy response. *Neoplasma* 49: 159-166.
- 11) Maggio, *et al.*, (2002). Chemokines, cytokines and their receptors in Hodgkin's lymphoma cell lines and tissues. *Ann Oncol* 13 Supl 1: 52-56.
- 12) Nilsson, K (1992). *Bum Cell*. 5 (1): 25-41.
- 13) Podhorecka, *et al.*, (2002). T type 1/type 2 subsets balance in B-cell chronic lymphocytic leukemia-the three-color flow cytometry analysis. *Leuk Res* 26: 657-660.
- 14) Pu, QQ y Bezwoda, W (2000). *Anticancer Res*. 20 (4): 2569-78.
- 15) Smyth, *et al.*, (2003). Renal cell carcinoma induces prostaglandin E2 and T-helper type 2 cytokine production in peripheral blood mononuclear cells. *Ann Surg Oncol* 10: 455-462.
- 16) Tatsumi, *et al.*, (2002). Disease-associated bias in T helper type 1 (Th1)/Th2 CD4(+) T cell responses against MAGE-6 in HLA-DRB10401(+) patients with renal cell carcinoma or melanoma. *J Exp Med* 196: 619-628.
- 17) Walls A V *et al.*, (1989). *Int. J Cancer* 44846-853.
- 18) Winter, *et al.*, (2003). Tumour-induced polarization of tumour vaccine-draining lymph node T cells to a type 1 cytokine profile predicts inherent strong immunogenicity of the tumour and correlates with therapeutic efficacy in adoptive transfer studies. *Immunology* 108: 409-419.
- 19) Cameron, C. M., J. W. Barrett, L. Liu, A. R. Lucas, y G. McFadden. 2005. Myxoma virus M141R expresses a viral CD200 (vOX-2) that is responsible for down-regulation of macrophage and T-cell activation in vivo. *J Virol* 79: 6052.
- 20) Foster-Cuevas, M., G. J. Wright, M. J. Puklavec, M. H. Brown, y A. N. Barclay. 2004. Human herpesvirus 8 K14 protein mimics CD200 in down-regulating macrophage activation through CD200 receptor. *J Virol* 78: 7667.
- 21) Nicholas, J. 2003. Human herpesvirus-8-encoded signalling ligands and receptors. *J Biomed Sci* 10: 475.
- 22) Shiratori, I., M. Yamaguchi, M. Suzukawa, K. Yamamoto, L. L. Lanier, T. Saito, y H. Arase. 2005. Down-regulation of basophil function by human CD200 and human herpesvirus-8 CD200. *J Immunol* 175: 4441.
- 23) Voigt, S., G. R. Sandford, G. S. Hayward, y W. H. Burns. 2005. The English strain of rat cytomegalovirus (CMV) contains a novel captured CD200 (vOX2) gene and a spliced CC chemokine upstream from the major immediate-early region: further evidence for a separate evolutionary lineage from that of rat CMV Maastricht. *J Gen Virol* 86: 263.
- 24) Zhang, J., J. Wang, C. Wood, D. Xu, y L. Zhang. 2005. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus/human herpesvirus 8 replication and transcription activator regulates viral and cellular genes via interferon-stimulated response elements. *J Virol* 79: 5640.

## LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Alexion Pharmaceuticals, Inc.  
Bowdish, Katherine  
Kretz-Rommel, Anke  
Faas McKnight, Susan  
springhorn, Jeremy P.  
Wu, Dayang

<120> ANTICUERPOS PARA OX-2/CD200 Y USOS DE LOS MISMOS  
<130> P2493 EP/1

<150> US 60/758.426  
<151> 12-01-2006

<150> US 60/759.085

<151> 12-01-2006  
 <150> US 60/801.991  
 <151> 18-05-2006  
 5 <160> 51  
 <170> FastSEQ para windows versión 4.0  
 10 <210> 1  
 <211> 22  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 15 <220>  
 <223> Cebador C7mhHF  
 <400> 1  
 20 tcctcagcct ccaccaagg cc 22  
 <210> 2  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 25 <220>  
 <223> Cebador Rev Age Pri  
 <400> 2  
 30 gggcgctga gttccacgac 20  
 <210> 3  
 <211> 39  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 35 <220>  
 <223> Cebador C2aB7 rev  
 <400> 3  
 40 ggcccttggt ggaggctgag gaaactgtga gagggtgc 39  
 <210> 4  
 <211> 22  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 45 <220>  
 <223> Cebador lacpri  
 <400> 4  
 50 gctcccggct cgtatgtgt gt 22  
 <210> 5  
 <211> 24  
 55 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cebador LeadVHpAX  
 60 <400> 5  
 atatgaaata tctgctgccg accg 24  
 <210> 6  
 65 <211> 2010  
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> cadena pesada de chC2aB7-hG1, secuencia genómica hG1

5

<400> 6

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactccctc 60
gaggtccagc tgcaacagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc actgaagatg 120
tcctgcaagg cttctggtta ttcattcact gactacatca tactctgggt gaagcagaac 180
catggaaaga gccttgagtg gattggacat attgatcctt actatggtag ttctaactac 240
aatctgaaat tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca aatcttccag cacagcctac 300
atgcagctca acagtctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgg aagatctaag 360
agggactact ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtttcttc agcctccacc 420
aaggggccat cggctcttccc cctggcacc cctctcaaga gcacctctgg cggcacagcg 480
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca 540
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgttcc tacagtcttc aggactctac 600
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 660
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttggtga gaggccagca 720
cagggaggga ggggtgtctgc tgggaagccag gctcagcgct cctgcctgga cgcattcccg 780
ctatgcagtc ccagtccagg gcagcaaggc agggcccgct tgccctctca cccggaggcc 840
tctgcccccc cactcatgc tcaggagag ggctcttctg ctttttcccc aggcctctgg 900
caggcacagg ctagggtgccc ctaaccaggg ccctgcacac aaaggggagc gtgctgggct 960
cagacctgcc aagagccata tccgggagga ccctgcccc gacctaaagg caccctaaag 1020
gccaaactct ccactccctc agctcggaca ccttctctcc tcccagattc cagtaactcc 1080
caatcttctc tctgcagagc ccaaatcttg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc 1140
aggtaagcca gcccaggcct cgccctccag ctcaaggcgg gacaggtgcc cttagagtagc 1200
ctgcatccag ggacaggccc cagccgggtg ctgacacgtc cacctccatc tcttctctag 1260
cacctgaact cctgggggga ccgtcagtc tctcttcccc cccaaaaccc aaggacaccc 1320
tcatgatctc ccggacccct gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc 1380
ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc 1440
cgcgaggaga gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc 1500
aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaaggctc caacaaagcc ctcccagccc 1560
ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag gtgggacccg tgggggtcga gggccacatg 1620
gacagaggcc ggctcggccc accctctgcc ctgagagtga ccgctgtacc aacctctgtc 1680
cctacagggc agccccgaga accacagggtg tacaccctgc ccccatcccc ggaggagatg 1740
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatccccg cgacatcgcc 1800
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1860
gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1920
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1980
aagagcctct ccctgtcccc gggtaaatga

```

10

<210> 7

<211> 467

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Cadena pesada de chC2aB7-hG1

<400> 7

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 1   | 5   | 10  | 15  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Val | His | Ser | Leu | Glu | Val | Gln | Leu | Gln | Gln | Ser | Gly | Pro | Glu | Leu | Val |
| Lys | Pro | Gly | Ala | Ser | Leu | Lys | Met | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Ser |
| Phe | Thr | Asp | Tyr | Ile | Ile | Leu | Trp | Val | Lys | Gln | Asn | His | Gly | Lys | Ser |
| Leu | Glu | Trp | Ile | Gly | His | Ile | Asp | Pro | Tyr | Tyr | Gly | Ser | Ser | Asn | Tyr |
| Asn | Leu | Lys | Phe | Lys | Gly | Lys | Ala | Thr | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Ser |
| Ser | Thr | Ala | Tyr | Met | Gln | Leu | Asn | Ser | Leu | Thr | Ser | Glu | Asp | Ser | Ala |
| Val | Tyr | Tyr | Cys | Gly | Arg | Ser | Lys | Arg | Asp | Tyr | Phe | Asp | Tyr | Trp | Gly |
| Gln | Gly | Thr | Thr | Leu | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser |
| Val | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Ser | Ser | Lys | Ser | Thr | Ser | Gly | Gly | Thr | Ala |
| Ala | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val |
| Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala |
| Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val |
| Pro | Ser | Ser | Ser | Leu | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Ile | Cys | Asn | Val | Asn | His |
| Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Arg | Val | Glu | Pro | Lys | Ser | Cys |
| Asp | Lys | Thr | His | Thr | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Glu | Leu | Leu | Gly |
| Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met |
| Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His |
| Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Lys | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val |
| His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Tyr | Asn | Ser | Thr | Tyr |
| Arg | Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly |
| Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Ala | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile |
| Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Ala | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val |
| Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Arg | Glu | Glu | Met | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser |
| Leu | Thr | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu |
| Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro |
| Val | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr | Val |
| Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met |
| His | Glu | Ala | Leu | His | Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser |
| Pro | Gly | Lys |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 8  
 <211> 1401  
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada de hB7V4V1-hG1 (ADNc de hG1)

5

```

atgggatgga gctggatctt tctctttctc ctgtcagtaa ctgcaggtgt gttctctgag 60
gtccagctgg tggagtccgg acctgaggtg aagaagcctg gggcttcagt gaaggtgtcc 120
tgcaaggctt ctggttattc attcactgac tacatcatac tctggatcag gcagcatagc 180
ggaaagggcc ttgagtggat tggacatatt gatccttact atggtagttc taactacaat 240
ctgaaattca agggcagggg cacaatcact gcagacaaat ctaccaggac aacctacatg 300
gagctcacca gtctgacatc tgaggacact gcagtctatt actgtggaag atctaagagg 360
gactactttg actactgggg ccaaggcacc actctcacag tttctcagc ctccaccaag 420
ggcccatcgg tcttcccgt agcacccctc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 480
ctgggctgcc tgggtcaaggc ctacttcccc gaaccggtga cgggtgtcgtg gaactcaggc 540
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 600
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta catctgcaac 660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac 720
aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaactcc tggggggacc gtcagtcttc 780
ctcttcccc caaaacccaa ggacacccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 840
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 900
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 960
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1020
aaggctctca acaaagccct cccagcccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1080
cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1320
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1380
tccctgtctc cgggtaaatg a                                     1401

```

<210> 9

<211> 466

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada de hB7V4V1-hG1

10

15

<400> 9

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

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
 260 265 270  
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu  
 275 280 285  
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 290 295 300  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg  
 305 310 315 320  
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 325 330 335  
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
 340 345 350  
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
 355 360 365  
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 370 375 380  
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
 385 390 395 400  
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val  
 405 410 415  
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp  
 420 425 430  
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
 435 440 445  
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
 450 455 460  
 Gly Lys  
 465

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 1401

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada de hB7V3V1-hG1 (ADNc de hG1)

<400> 10

5

```

atgggatgga gccggatctt tctcttcttc ctgtcaataa ttgcagggtgt ccattgccag 60
gtccagctgc aacagtctgg atctgagctg aagaagcctg gggcttcagt gaagatctcc 120
tgcaaggctt ctggttatct attcactgac tacatcatac tctgggtgag gcagaaccct 180
ggaaagggcc ttgagtggat tggacatatt gatccttact atggtagttc taactacaat 240
ctgaaattca agggcagagt gacaatcacc gccgaccagt ctaccaccac agcctacatg 300
gagctctcca gtctgagatc tgaggacact gcagtctatt actgtggaag atctaagagg 360
gactactttg actactgggg ccaaggcacc actctcacag ttctctcagc ctccaccaag 420
ggcccatcgg tcttcccgtc agcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 480
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccgggtga cgggtgtcgtg gaactcaggc 540
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 600
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta catctgcaac 660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac 720
aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaactcc tggggggacc gtcagtcttc 780
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc 840
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggtg cgtggacggc 900
gtggagggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 960
gtggtcagcg tcctcacctg cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1020
aaggctctca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1080
cagccccgag aaccacagggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140
caggctcagc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcagggtggc gcaggggaac 1320
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1380
tccctgtctc cgggtaaatg a

```

<210> 11

<211> 466

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada de hB7V3V1-hG1

<400> 11

10

15

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Trp | Ser | Arg | Ile | Phe | Leu | Phe | Leu | Leu | Ser | Ile | Ile | Ala | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |
| Val | His | Cys | Gln | Val | Gln | Leu | Gln | Gln | Ser | Gly | Ser | Glu | Leu | Lys | Lys |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Pro | Gly | Ala | Ser | Val | Lys | Ile | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Ser | Phe |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Asp | Tyr | Ile | Ile | Leu | Trp | Val | Arg | Gln | Asn | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Glu | Trp | Ile | Gly | His | Ile | Asp | Pro | Tyr | Tyr | Gly | Ser | Ser | Asn | Tyr | Asn |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Leu | Lys | Phe | Lys | Gly | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Ala | Asp | Gln | Ser | Thr | Thr |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Ala | Tyr | Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Tyr | Tyr | Cys | Gly | Arg | Ser | Lys | Arg | Asp | Tyr | Phe | Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Gly | Thr | Thr | Leu | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Ser | Ser | Lys | Ser | Thr | Ser | Gly | Gly | Thr | Ala | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Ser | Ser | Ser | Leu | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Ile | Cys | Asn | Val | Asn | His | Lys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Arg | Val | Glu | Pro | Lys | Ser | Cys | Asp |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Lys | Thr | His | Thr | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Glu | Leu | Leu | Gly | Gly |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Asp | Pro | Glu | Val | Lys | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Tyr | Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Ala | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Ala | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Arg | Glu | Glu | Met | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Thr | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Val |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     | 415 |     |     |
| Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr | Val | Asp |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Glu | Ala | Leu | His | Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Gly | Lys |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 465 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 12  
 <211> 2002  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada de hB7V3V2-hG2G4 (secuencia genómica hG2G4)

<400> 12

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactccctc 60
gaggtccagc tgcaacagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc actgaagatg 120
tcctgcaagg cttctggtta ttcatctact gactacatca tactctgggt gaagcagaac 180
catggaaaga gccttgagtg gattggacat attgatcctt actatggtag ttctaactac 240
aatctgaaat tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca aatcttccag cacagcctac 300
atgcagctca acagtctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgg aagatctaag 360
agggactact ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtttcttc agcctccacc 420
aaggggccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcc 480
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca 540
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgtgct tacagtcctc aggactctac 600
tccctcagca gcgtggtgac cgtgcccttc agcaacttcg gcaccagac ctacacctgc 660
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga cagttggtga gaggccagct 720
cagggaggga ggggtgtctgc tgggaagccag gctcagccct cctgcctgga cgcaccccg 780
ctgtgcagcc ccagcccagg gcagcaaggc agggcccatc tgtctctca cccggaggcc 840
tctgcccgcc cactcatgc tcagggagag ggtcttcttg ctttttccac caggctccag 900
gcaggcacag gctgggtgcc cctaccccag gcccttcaca cacaggggca ggtgcttggc 960
tcagacctgc caaaagccat atccgggagg accctgcccc tgacctaacg cgaccccaaa 1020
ggccaaactg tccactccct cagctcggac accttctctc ctcccagatc cgagtaactc 1080
ccaatcttct ctctgcagag cgcaaatggt gtgtcagagt cccaccgtgc ccaggtaagc 1140
cagcccaggc ctgcccctcc agctcaaggc gggacaggtg ccctagagta gcctgcatcc 1200
agggacaggc cccagctggg tgctgacacg tccacctcca tctcttctc agcaccacct 1260
gtggcaggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacacct catgatctcc 1320
cggacccctg aggtcacgtg cgtggtgggt gacgtgagcc aggaagacc cgaggtccag 1380
ttcaactggt acgtggatgg cgtggagggt cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 1440
cagttcaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg 1500
aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaaggcc tcccgtctc catcgagaaa 1560
accatctcca aagccaaagg tgggaccac gggtgcgag ggccacatgg acagaggtca 1620
gctcggcccc ccctctgccc tgggagtgac cgctgtgcca acctctgtcc ctacagggca 1680
gccccgagag ccacagggtg acacctgccc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca 1740
ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga 1800
gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg 1860
ctccttcttc ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc aggtggcagg aggggaatgt 1920
cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc 1980
cctgtctctg ggtaaatgat ga 2002

```

5

<210> 13

<211> 462

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada de hB7V3V2-hG2G4

15 <400> 13

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

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

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 1999

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada de chC2aB7-hG2G4 (secuencia genómica hG2G4)

<400> 14

5

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactccctc 60
gaggtccagc tgcaacagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc actgaagatg 120
tcctgcaagg cttctgggta ttcattcact gactacatca tactctgggt gaagcagaac 180
catggaaga gccttgagtg gattggacat attgatcctt actatggtag ttctaactac 240
aatctgaaat tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca aatcttccag cacagcctac 300
atgcagctca acagtctgac atctgaggac tctgcagtct attactgttg aagatctaag 360
agggactact ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtttcttc agcctccacc 420
aagggcccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcc 480
gccctgggct gcctgggcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 540
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac 600
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgcccttc agcaacttcg gcacccagac ctacacctgc 660
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga cagttggtga gaggccagct 720
cagggaggga ggggtgtctgc tggaaagccag gctcagccct cctgcctgga cgcaccccg 780
ctgtgcagcc ccagcccagg gcagcaaggc aggcccatc tgtctcctca cccggaggcc 840
tctgcccgc ccactcatgc tcagggagag ggtcttcttg ctttttccac caggctccag 900

```

```

gcaggcacag gctgggtgcc cctaccccag gcccttcaca cacaggggca ggtgcttggc 960
tcagacctgc caaaagccat atccgggagg accctgcccc tgacctaaagc cgaccccaaa 1020
ggccaaactg tccactccct cagctcggac accttctctc ctcccagatc cgagtaactc 1080
ccaatcttct ctctgcagag cgcaaagtgt gtgtcagatg cccaccgtgc ccaggtaagc 1140
cagcccaggc ctgcctctcc agctcaaggc gggacagggt ccctagagta gcctgcatcc 1200
agggacaggc cccagctggg tgcagacag tccacctcca tctcttcttc agcaccacct 1260
gtggcaggac cgtcagctct cctcttcccc ccaaaaccca aggacacct catgatctcc 1320
cggaccctg aggtcacgtg cgtgggtggg gacgtgagcc aggaagaccc cgagggtccag 1380
ttcaactggt acgtggatgg cgtggagggt cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 1440
cagttcaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtctcaccg tcctgcacca ggactggctg 1500
aacggcaagg agtacaagt caaggctctc acaaaaggcc tcccgctctc catcgagaaa 1560
accatctcca aagccaaagg tgggacccac ggggtgcgag ggccacatgg acagagggtca 1620
gctcgccca cctctgccc tgggagtgac cgtgtgcca acctctgtcc ctacagggca 1680
gccccgagag ccacagggtg acacctgccc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca 1740
ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga 1800
gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg 1860
ctccttcttc ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc aggtggcagg aggggaatgt 1920
cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc 1980
cctgtctctg ggtaaatga

```

<210> 15

<211> 463

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada de chC2aB7-hG2G4

<400> 15

10

15

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

305 310 315 320  
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 325 330 335  
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile  
 340 345 350  
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 355 360 365  
 Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  
 370 375 380  
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 385 390 395 400  
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 405 410 415  
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 420 425 430  
 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 435 440 445  
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 450 455 460

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 1391

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Secuencia artificial

&lt;220&gt;

<223> Cadena pesada de hB7V3V2-cG2G4 (ADNc de G2G4)

<400> 16

```

atgggatgga gccggatctt tctcttcctc ctgtcaataa ttgcaggtgt ccattgccag 60
gtccagctgc aacagtctgg atctgagctg aagaagcctg gggcttcagt gaagatctcc 120
tgcaaggctt ctggttattc attcactgac tacatcatac tctgggtgag gcagaaccct 180
ggaaagggcc ttgagtggat tggacatatt gatccttact atggtagttc taactacaat 240
ctgaaattca agggcagagt gacaatcacc gccgaccagt ctaccaccac agcctacatg 300
gagctctcca gtctgagatc tgaggacact gcagtctatt actgtggaag atctaagagg 360
gactactttg actactgggg ccaaggcacc actctcacag tttcctcagc ctccaccaag 420
ggcccatccg tcttccccct ggcgcctctg tccaggagca cctccgagag cacagccgcc 480
ctgggctgcc tggccaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 540
gccctgacca gcggcggtgca caccctcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 600
ctcagcagcg tggtagaccgt gccctccagc aacttcggca cccagaccta cacctgcaac 660
gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagacag ttgagcgcaa atgttggtgc 720
gagtgtccac cgtgtcccagc accacctgtg gcaggaccgt cagtcttcct cttcccccca 780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacgtgcgt ggtggtggac 840
gtgagccagg aagaccccg ggtccagttc aactggtacg tggatggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaaga caaagcccg ggaggagcag ttcaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaaggcctcc cgtcctccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagag 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttcc 1260
ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctctg 1380
ggtaaatgat g                                     1391

```

5

<210> 17

<211> 2005

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada de ChC7-hG2G4 (secuencia genómica hG2G4)

15

<400> 17

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactccctc 60
gaggtccaac tgcagcagtc tggacctgag ctggagaagc ctggcgcttc agtgaagata 120
tcctgcaagg cttctggtta ctcatctact ggctacaaca tgaactgggt gaagcagagc 180
agtggaaaga gccttgagtg gattggaaat ttgatcctt actatgggtg tattacctac 240

```

```

aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 300
atgcagctca agagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagaacggct 360
acggctctct atactatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctctcagcc 420
tccaccaagg gcccatccgt cttccccctg gcgcctgtct ccaggagcac ctccgagagc 480
acagccgccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540
aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ctgtcctaca gtcctcagga 600
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg cctccagca acttcggcac ccagacctac 660
acctgcaacg tagatcaca gccagcaac accaagggtg acaagacagt tggtagagg 720
ccagctcagg gagggagggt gtctgtgga agccaggctc agccctcctg cctggacgca 780
ccccggctgt gcagccccag cccagggcag caaggcaggc cccatctgtc tcctcaccg 840
gaggcctctg cccgccccac tcatgtctag ggagagggtc ttctggcttt ttccaccagg 900
ctccaggcag gcacaggctg ggtgccccta cccaggccc ttcacacaca ggggcagggtg 960
cttggctcag acctgccaaa agccatatcc gggaggacct tgcccctgac ctaagccgac 1020
cccaaaggcc aaactgtcca ctccctcagc tcggacacct tctctcctcc cagatccgag 1080
taactcccaa tcttctctct gcagagcgca aatgttgtgt cgagtgtcca ccgtgccag 1140
gtaagccagc ccaggcctcg cctccagct caaggcggga cagggtgccct agagtgcct 1200
gcatccaggg acaggcccca gctgggtgct gacacgtcca cctccatctc ttctcagca 1260
ccacctgtgg caggaccgtc agtcttctc tttcccccaa aaccaagga caccctcatg 1320
atctcccgga cccctgaggc cacgtgcgtg gtggtggacg tgagccagga agaccccgag 1380
gtccagttca actggtacgt ggatggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg 1440
gaggagcagt tcaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 1500
tggctgaacg gcaaggagta caagtgaag gtctccaaca aaggcctccc gtcctccatc 1560
gagaaaacca tctccaaagc caaagggtgg acccacgggg tgcgagggcc acatggacag 1620
aggtcagctc ggcccaccct ctgcccctgg agtgaccgct gtgccaaacct ctgtccctac 1680
agggcagccc cgagagccac aggtgtacac cctgccccca tcccaggagg agatgaccaa 1740
gaaccagggt agcctgacct gcctggtcaa aggcttctac cccagcgaca tcgccgtgga 1800
gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc 1860
cgacggctcc ttcttctct acagcaggct aaccgtggac aagagcagggt ggcaggagg 1920
gaatgtcttc tcatgtctcg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cacagaagag 1980
cctctccctg tctctgggta aatga 2005

```

<210> 18

<211> 468

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada de ChC7-hG2G4 (secuencia genómica hG2G4)

<400> 18

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

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys  
225 230 235 240  
Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Gly Lys Pro Ala Pro Pro Val  
245 250 255  
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu  
260 265 270  
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser  
275 280 285  
Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu  
290 295 300  
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr  
305 310 315 320  
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn  
325 330 335  
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser  
340 345 350  
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln  
355 360 365  
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val  
370 375 380  
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val  
385 390 395 400  
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro  
405 410 415  
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr  
420 425 430  
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
435 440 445  
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
450 455 460  
Ser Leu Gly Lys  
465

<210> 19

<211> 2025

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada de D1B5-hG1 (secuencia genómica de región constante de hG1)

<400> 19

5

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactccctc 60
gaggtccaac tgcagcagcc tggggcagag ctgtgtgaggt caggggcctc agtcaagttg 120
tcctgcaaag cttctggctt caacattaaa gactactata tacactgggt gaagcagagg 180
cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agattggtgc tactaaatat 240
gtcccgaagt tccagggcaa ggccactatg actacagaca catcctccaa cacagcctac 300
ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtaa tgccctctat 360
ggtaactacg accgttacta tgctatggac tactgggggtc aaggaaacctc agtcaccgtc 420
tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc ttcccccttg caccctcctc caagagcacc 480
tctggcggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 540
gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggctgtgcaca ccttccccgc tgtcctacag 600
tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 660
cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt 720
ggtgagaggc cagcacaggg agggaggggtg tctgctggaa gccaggctca gcgctcctgc 780
ctggacgcat cccggctatg cagtcccagt ccagggcagc aaggcaggcc ccgtctgcct 840
cttcacccgg aggcctctgc ccgccccact catgctcagg gagagggtct tctggctttt 900
tccccaggct ctgggcaggc acaggctagg tgccccaaac ccaggccctg cacacaaagg 960
ggcagggtgt gggctcagac ctgccaagag ccatatccgg gaggaccctg cccctgacct 1020
aagccaccc caaaggccaa actctccact ccctcagctc ggacaccttc tctcctccca 1080
gattccagta actcccaatc ttctctctgc agagcccaaa tcttgtgaca aaactcacac 1140
atgcccaccg tgcccaggta agccagccca ggctcggccc tccagctcaa ggcgggacag 1200
gtgccctaga gtaccctgca tccagggaca ggccccagcc ggggtgctgac acgtccacct 1260
ccatctcttc ctcagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcttc ttccccccaa 1320
aacccaagga caccctcatg atctcccggg cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg 1380
tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata 1440

```

```

atgccaaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc 1500
tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgaag gtctccaaca 1560
aagccctccc agcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggtgg acccggtggg 1620
tgcgagggcc acatggacag aggcgggtc ggcccacct ctgccctgag agtgaccgtc 1680
gtaccaacct ctgtccctac agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca 1740
tcccgggagg agatgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa aggcttctat 1800
cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc 1860
acgcctcccc tgctggactc cgacggctcc ttcttctct atagcaagct caccgtggac 1920
aagagcagggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac 1980
aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tccccgggta aatga 2025

```

<210> 20

<211> 472

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada de D1B5-hG1

<400> 20

10

15

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

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
 385 390 395 400  
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
 405 410 415  
 Lys Thr Thr Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
 420 425 430  
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
 435 440 445  
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 450 455 460  
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 465 470

<210> 21  
 <211> 2026  
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada de G2G4 63L1D (secuencia genómica hG2G4)

5

<400> 21

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactcccag 60
atgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg ggtcctcggg gaaggctctc 120
tgcaaggcct ctggaggcac cttcagcaac tatgctacca gttgggtgcg acaggccctc 180
ggacaagggtc ttgagtggct gggagggatc atccccgtct tcggtactgc aaactacgca 240
cagaagtttc agggcagagt caccattacc gcggacgagt ccacgagcac agcctacatg 300
gagttgaata gtctgacatt tgacgacacg gccgtctatt actgtgagag aggggggtgg 360
ggatggggag gccggaacta ctactactac tactacatgg acgtctgggg caaagggacc 420
actgtcaccg tctcctcagc ctccaccaag ggcccatccg tcttccccct ggcgcccctg 480
tccaggagca cctccgagag cacagccgcc ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc 540
gaaccgggtg cgggtgtcgtg gaactcaggc gccctgacca gcggcggtgca cacttccccg 600
gctgtcctac agtcctcagg actctactcc ctacgagcgc tgggtgaccgt gccctccagc 660
aacttcggca cccagacctc cacctgcaac gtagatcaca agcccagcaa caccaagggt 720
gacaagacag ttggtgagag gccagctcag ggagggaggg tgtctgctgg aagccagggt 780
cagccctcct gcctggacgc acccggctg tgacgccccg gccagggcag gcaaggcagg 840
ccccatctgt ctctcaccg ggaggcctct gcccgcacca ctcatgctca gggagagggg 900
cttctggctt ttccaccag gctccaggca ggcacaggct ggggtgcccct accccaggcc 960
cttcacacac aggggcagggt gcttggctca gacctgccaa aagccatata cgggaggacc 1020
ctgcccctga cctaagccga ccccaaaggc caaactgtcc actccctcag ctcggaacac 1080
ttctctctc ccagatccga gtaactccca atcttctctc tgcagagcgc aaatgttggtg 1140
tcgagtgcct accgtgcccc ggtaagccag cccaggcctc gccctccagc tcaaggcggg 1200
acaggtgccc tagagtagcc tgcattccag gacaggcccc agctgggtgc tgacacgtcc 1260
acctccatct ctctctcagc accacctgtg gcaggaccgt cagtcttctc ctcccccca 1320
aaaccaagg acacctcat gatctcccgg acccctgagg tcacgtgctg ggtggtggac 1380
gtgagccagg aagacccccg ggtccagttc aactggtacg tggatggcgt ggaggtgcat 1440
aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag ttcaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 1500
ctaccgtcc tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1560
aaaggcctcc cgtctctcat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggtg gaccacagg 1620
gtgagggggc cacatggaca gaggtcagct cggcccaccc tctgccctgg gaggtagcgc 1680
tgtgccaacc tctgtcccta cagggcagcc ccgagagcca caggtgtaca ccctgcccc 1740
atcccaggag gagatgacca agaaccaggc cagcctgacc tgcctggtca aaggcttcta 1800
ccccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac 1860
cacgcctccc gtgctggact ccgacggctc cttcttctc tacagcaggc taaccgtgga 1920
caagagcagg tggcaggagg ggaatgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggtcttgca 1980
caaccactac acacagaaga gcctctccct gtctctgggt aaatga 2026

```

10

<210> 22

<211> 472

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Cadena pesada de G2G4 63L1D

<400> 22

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

20

|   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 1 | Val | His | Ser | Gln | Met | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys |
|   |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
|   | Pro | Gly | Ser | Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Gly | Thr | Phe |
|   |     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
|   | Ser | Asn | Tyr | Ala | Thr | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu |
|   |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
|   | Glu | Trp | Leu | Gly | Gly | Ile | Ile | Pro | Val | Phe | Gly | Thr | Ala | Asn | Tyr | Ala |
|   | 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
|   | Gln | Lys | Phe | Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Ala | Asp | Glu | Ser | Thr | Ser |
|   |     |     |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
|   | Thr | Ala | Tyr | Met | Glu | Leu | Asn | Ser | Leu | Thr | Phe | Asp | Asp | Thr | Ala | Val |
|   |     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
|   | Tyr | Tyr | Cys | Ala | Arg | Gly | Gly | Gly | Gly | Trp | Gly | Gly | Arg | Asn | Tyr | Tyr |
|   |     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
|   | Tyr | Tyr | Tyr | Tyr | Met | Asp | Val | Trp | Gly | Lys | Gly | Thr | Thr | Val | Thr | Val |
|   |     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
|   | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Cys |
|   | 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
|   | Ser | Arg | Ser | Thr | Ser | Glu | Ser | Thr | Ala | Ala | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys |
|   |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     |     | 175 |     |
|   | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu |
|   |     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
|   | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu |
|   |     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
|   | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Asn | Phe | Gly | Thr |
|   |     | 210 |     |     |     | 215 |     |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
|   | Gln | Thr | Tyr | Thr | Cys | Asn | Val | Asp | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val |
|   | 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
|   | Asp | Lys | Thr | Val | Glu | Arg | Lys | Cys | Cys | Val | Glu | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro |
|   |     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
|   | Ala | Pro | Pro | Val | Ala | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro |
|   |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
|   | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val |
|   |     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
|   | Val | Asp | Val | Ser | Gln | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Gln | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val |
|   |     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
|   | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln |
|   | 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
|   | Phe | Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg | Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln |
|   |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     |     | 335 |     |
|   | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Gly |
|   |     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
|   | Leu | Pro | Ser | Ser | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Ala | Lys | Gly | Gln | Pro |
|   |     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
|   | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Gln | Glu | Glu | Met | Thr |
|   |     |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
|   | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser |
|   | 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
|   | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr |
|   |     |     |     | 405 |     |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
|   | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Val | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr |
|   |     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
|   | Ser | Arg | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | Glu | Gly | Asn | Val | Phe |
|   |     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
|   | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | His | Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys |
|   |     | 450 |     |     |     | 455 |     |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
|   | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Leu | Gly | Lys |     |     |     |     |     |     |     |     |
|   | 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 23

<211> 705

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena ligera de chC2aB7-hG1, Ck humano

<400> 23

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactctaga 60
gacatccaga tgacacagtc tccatcttcc atgtatgcat ctctaggaga gagagtcact 120
atcacttgca aggcgagtc ggacattaat agctatttaa gctggttcca gcagaaacca 180
gggaaatctc ctaagaccct gatctatcgt gcaaacagat tggtagatgg gggtccatca 240
aggttcagtg gcagtggatc tgggcaagat tattctctca ccatcagcag cctggagtat 300
gaagatatgg gaatttatta ttgtctacag tatgatgagt ttccgtacac gttcggaggg 360
gggaccaagc tggaaataaa acggactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccacca 420
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 660
ctgagctcgc ccgtcaca aaa gagcttcaac aggggagagt gttaa 705

```

5 <210> 24  
 <211> 234  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Cadena ligera de chC2aB7-hG1, ck humano  
 <400> 24

```

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

```

15 <210> 25  
 <211> 711  
 <212> ADN  
 20 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cadena ligera de hB7V4V1-hG1  
 25 <400> 25

atggacatga gggctctctgc tcagctcctg gggctcctgc tgctctggct ctcaggagcc 60  
agatgtgaca tccagatgac acagctctcca tcttcctgt ctgcatctat aggagacaga 120  
gtcactatca cttgcaaggc gagtcaggac attaatagct atttaagctg gtaccagcag 180

aaaccagggg aagctcctaa gtccctgac tatcgtgcaa acagattggg agatgggggt 240  
ccatcaagggt tcagtggcag tggatctggg acagattata ctctcaccat cagcagcctg 300  
cagcctgaag atttcgcagt ttattattgt ctacagtatg atgagtttcc gtacacgttc 360  
ggaggggggga ccaagctgga aataaaacgt acggtggctg caccatctgt cttcatcttc 420  
ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480  
ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aagggtggata acgcccctca atcgggtaac 540  
tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600  
ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat 660  
cagggcctga gctcgccctg cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgtta g 711

<210> 26  
<211> 236  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Cadena ligera de hB7V4V1-hG1 (Ck humano)

<400> 26

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

<210> 27  
<211> 711  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Cadena ligera de hB7v3v2-hG1

<400> 27

```

atggacatga gggctctctgc tcagctcctg gggctcctgc tgctctggct ctcagggggcc 60
aggtgtgaca tccagatgac acagctctcca tcttccctgt ctgcatctat aggagacaga 120
gtcactatca cttgcaaggc gagtcaggac attaatagct atttaagctg gttccagcag 180
aaaccagggg aagctcctaa gctgctgac tatcgtgcaa acagattggg agatgggggt 240
ccatcaagggt tcagtggcag tggatctggg acagattata ctctcaccat cagcagcctg 300
cagcctgaag atttcgcagt ttattattgt ctacagtatg atgagtttcc gtacacgttc 360
ggagggggga ccaagctgga aataaaacgt acggtggctg caccatctgt cttcatcttc 420
ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480

```

```

ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aagggtggata acgccctcca atcgggtaac 540
tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600
ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat 660
cagggcctga gctcgcctgt cacaagagc ttcaacaggg gagagtgtta g 711

```

5 <210> 28  
 <211> 236  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Cadena ligera de hB7v3v2-hG1 (Ck humano)  
 <400> 28

```

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

```

15 <210> 29  
 <211> 708  
 <212> ADN  
 20 <213> Secuencia artificial  
 <220>

<223> Cadena ligera de Chc7-hG2G4

<400> 29

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactctaga 60
gaaattgtgc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga aaaggtcacc 120
atgacctgca gggccagctc aagtgttaagt tccagttact tgcactggta ccagcagaag 180
tcaggtgcct cccccaact ctggatttat agcacatcca acttggcttc tggagtccct 240
gctcgcttca gtggcagtggt gtctgggacc tcttactctc tcacaatcag cagtgtggag 300
gctgaagatg ctgccactta ttactgccag cagtacagtg gttaccact caggttcggc 360
tcggggacaa agttggaaat aaaacggact gtggctgcac catctgtctt catcttccc 420
ccatccgatg agcagttgaa atctgggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 480
tatccagag aggccaaagt acagtggag gtggataacg ccttccaatc gggtaactcc 540
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 600
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 660
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtggttaa 708

```

5

<210> 30

<211> 235

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena ligera de ChC7-hG2G4 (ck humano)

15 <400> 30

```

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

```

<210> 31

<211> 705

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena ligera de D1B5-hG1

20

<400> 31

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactctaga 60
gacattgtga tgacccagtc tcaaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 120
atcacctgca aggccagtc gaattgttcgt actgctgtag cctgggtatca acagaaacca 180
gggcagtctc ctaaagcact gatttacttg gcatccaacc ggcacactgg agtccctgat 240
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccattagcaa tgtgcaatct 300
gaagacctgg cagattatct ctgtctgcaa cattggaatt atcctctcac gttcgggtgct 360
gggaccaagc tggagctgaa acggactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 420
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcaa caccctgacg 600
ctgagcaaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttaa 705

```

5 <210> 32  
 <211> 234  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Cadena ligera de D1B5-hG1 (ck humano)  
 <400> 32

```

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

```

15 <210> 33  
 <211> 696  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Cadena ligera de G2G4 63L1D

25 <400> 33

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactcttcc 60
tatgtgctga ctcagccacc ctcggagtcg gtggccccag gacagacggc caggatttcc 120
tgtgggggga gcaacattgg aagttacggg gtgcactggt accagcagaa ggcaggacag 180
gcccctgtgc tggtcgtcca tgatgattcc gaccggccct cagggattcc tgagcgattc 240
tctggctcca attctgggaa cacggccacc ctgaccatca gcagtgtcga agccggcgat 300
gaggccgact attactgtca ggtgtgggat aatagtgtct tgatattcgg cggagggacc 360
aaactaaccg tcctaagtca gcccagggt gcccctcgg tcactctgtt cccgccctcc 420
tctgaggagc ttcaagccaa caaggccaca ctggtgtgtc tcataagtga cttctaccgg 480
ggagctgtga cagtggcttg gaaagcagat agcagccccg tcaaggcggg agtggagacc 540
accacaccct ccaaacaag caacaacaag tacgcggcca gcagctatct gacctgacg 600
cctgagcagt ggaagtccca cagaagctac agctgccagg tcacgcatga agggagcacc 660
gtggagaaga cagtggcccc tacagaatgt tcataa 696

```

<210> 34  
 <211> 231  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Cadena ligera de G2G4 63L1D (CL humano)  
 <400> 34

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

```

      1           5           10           15
val His Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Glu Ser Val Ala
      20
Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Ser Cys Gly Gly Ser Asn Ile Gly Ser
      35
Tyr Gly Val His Trp Tyr Gln Lys Ala Gly Gln Ala Pro Val Leu
      50
val val His Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe
      65
Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val
      80
Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn Ser
      95
Ala Val Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Gln Pro
      110
Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
      125
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
      140
Gly Ala val Thr val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
      155
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
      170
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
      185
Ser Tyr Ser Cys Gln val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
      200
val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
      215
      220
      225
      230

```

<210> 35  
 <211> 31  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Cebador directo

|    |                                                                         |  |
|----|-------------------------------------------------------------------------|--|
|    | <400> 35                                                                |  |
|    | gacaagcttg caaggatgga gaggtggtg a 31                                    |  |
| 5  | <210> 36                                                                |  |
|    | <211> 33                                                                |  |
|    | <212> ADN                                                               |  |
|    | <213> Secuencia artificial                                              |  |
| 10 | <220>                                                                   |  |
|    | <223> Cebador inverso                                                   |  |
|    | <400> 36                                                                |  |
|    | gacggatccg cccctttcc tctgctttt ctc 33                                   |  |
| 15 | <210> 37                                                                |  |
|    | <211> 2160                                                              |  |
|    | <212> ADN                                                               |  |
|    | <213> Secuencia artificial                                              |  |
| 20 | <220>                                                                   |  |
|    | <223> Cadena pesada de chC2aB7-hG1                                      |  |
|    | <400> 37                                                                |  |
| 25 | gcgcgccacc agacataata gctgacagac taacagactg ttccctttcca tgggtctttt 60   |  |
|    | ctgcagtcac cgtccttgac acgaggcgcg ccgccaccat gggatggagc tgtatcatcc 120   |  |
|    | tcttcttggg agcaacagct acaggtgtcc actccctcga ggtccagctg caacagtctg 180   |  |
|    | gacctgagct ggtgaagcct ggggcttcac tgaagatgtc ctgcaaggct tctggttatt 240   |  |
|    | cattcactga ctacatcata ctctgggtga agcagaacca tggaaagagc cttgagtggg 300   |  |
|    | ttggacatat tgatccttac tatggtagtt ctaactacaa tctgaaattc aagggcaagg 360   |  |
|    | ccacattgac tgtagacaaa tcttccagca cagcctacat gcagctcaac agtctgacat 420   |  |
|    | ctgaggactc tgcagtctat tactgtggaa gatctaagag ggactacttt gactactggg 480   |  |
|    | gccaaaggc cactctcaca gtttctcag cctccaccaaa gggcccatcg gtcttcccc 540     |  |
|    | tggcaccctc ctccaagagc acctctggcg gcacagcggc cctgggctgc ctgggtcaagg 600  |  |
|    | actacttccc cgaaccgggtg acgggtgtcgt ggaactcagg cgccctgacc agcggcggtg 660 |  |
|    | acaccttccc ggctgtccta cagtctcag gactctactc cctcagcagc gtgggtgaccg 720   |  |
|    | tgccctccag cagcttgggc acccagacct acatctgcaa cgtgaatcac aagcccagca 780   |  |
|    | acaccaagggt ggacaagaga gttggtgaga ggccagcaca gggaggagggt gtgtctgctg 840 |  |
|    | gaagccaggc tcagcgctcc tgcctggacg catcccggct atgcagtcct agtccagggg 900   |  |
|    | agcaaggcag gccccgtctg cctcttcacc cggaggcctc tgcccgcccc actcatgctc 960   |  |
|    | agggagagggt tcttctggct ttttccccag gctctgggca ggcacaggct aggtgcccc 1020  |  |
|    | aaccagggc ctgcacacaa aggggcagggt gctgggtcga gacctgccaa gagccatatc 1080  |  |
|    | cgggaggacc ctgcccctga cctaagccca ccccaaaggc caaactctcc actccctcag 1140  |  |
|    | ctcggacacc ttctctctc ccagattcca gtaactccca atcttctctc tgcagagccc 1200   |  |
|    | aaatcttgtg acaaaactca cacatgccc cctgcccag gtaagccagc ccaggcctcg 1260    |  |
|    | ccctccagct caaggcgagg caggtgccc ttcctcagca cctgaactcc tggggggacc 1320   |  |
|    | gccgggtgct gacacgtcca cctccatctc ttctcagca cctgaactcc tggggggacc 1380   |  |
|    | gtcagtcctc ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga 1440   |  |
|    | ggtcacatgc gtggtggtgg acgtgagcca ggaagaccct gaggtcaagt tcaactggta 1500  |  |
|    | cgtggacggc gtggagggtg ataattgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag 1560 |  |
|    | cacgtaccgt gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaaggga 1620 |  |
|    | gtacaagtgc aagggtctcca acaaagccct cccagcccc atcgagaaaa ccatctccaa 1680  |  |
|    | agccaaagggt gggacccgtg ggggtgcagg gccacatgga cagaggccgg ctcggccac 1740  |  |
|    | cctctgccct gagagtgacc gctgtaccaa cctctgtccc tacagggcag ccccgagaac 1800  |  |
|    | cacagggtgta caccctgccc ccatcccggt aggagatgac caagaaccag gtcagcctga 1860 |  |
|    | cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc 1920  |  |
|    | agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc 1980  |  |
|    | tctatagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct 2040  |  |
|    | ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtccccgg 2100  |  |
|    | gtaaatgagt gcgacggcca gaattcattg atcataatca gccataccac atttgtagag 2160  |  |
| 30 | <210> 38                                                                |  |
|    | <211> 720                                                               |  |
|    | <212> ADN                                                               |  |
|    | <213> Secuencia artificial                                              |  |

<220>

<223> Cadena ligera de chc2aB7-hG1

<400> 38

5

```
aagcttgccg ccaccatggg atggagctgt atcatcctct tcttggtagc aacagctaca 60
ggtgtccact ctagagacat ccagatgaca cagtctccat cttccatgta tgcattctcta 120
ggagagagag tcaactatcac ttgcaaggcg agtcaggaca ttaatagcta tttaagctgg 180
ttccagcaga aaccagggaa atctcctaag accctgatct atcgtgcaaa cagattggta 240
gatgggggttc catcaagggt cagtggcagt ggatctgggc aagattattc tctcaccatc 300
agcagcctgg agtatgaaga tatgggaatt tattattgtc tacagtatga tgagtttccg 360
tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaacgga ctgtggctgc accatctgtc 420
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgctg 480
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cgccctcaa 540
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600
agcagcacc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa 660
gtcaccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttaa 720
```

<210> 39

<211> 1402

10

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada de hB7v4v1-hG1

15

<400> 39

```
catgggatgg agctggatct ttctctttct cctgtcagta actgcagggtg tgttctctga 60
ggtccagctg gtggagtccg gacctgaggt gaagaagcct ggggcttcag tgaagggtgtc 120
ctgcaaggct tctggttatt cattcactga ctacatcata ctctggatca ggcagcatag 180
cggaaagggc cttgagtggg ttggacatat tgatccttac tatggtagtt ctaactacaa 240
```

```
tctgaaattc aagggcaggg tcacaatcac tgcagacaaa tctaccagga caacctacat 300
ggagctcacc agtctgacat ctgaggacac tgcagtctat tactgtggaa gatctaagag 360
ggactacttt gactactggg gccaaaggcag cactctcaca gtttcctcag cctccaccaa 420
gggcccacgc gtcttccgc tagcaccctc ctccaagagc acctctgggg gcacagcggc 480
cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccgggtg acggtgtcgt ggaactcagg 540
cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta cagtccctcag gactctactc 600
cctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag cagcttgggc acccagacct acatctgcaa 660
cgtgaatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga gttgagccca aatcttgtga 720
caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc ctgggggggac cgtcagcttt 780
cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc cggacccctg aggtcacatg 840
cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagacc tgagggtcaag ttcaactggt acgtggacgg 900
cgtggagggtg cataatgcc aagacaaagc gcgggaggag cagtacaaca gcacgtaccg 960
tgtggtcagc gtcttcaccg tcctgcacca ggactggctg aatggcaagg agtacaagtg 1020
caaggctctc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg 1080
gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gccccatcc cgggaggaga tgaccaagaa 1140
ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctatccc agcgacatcg ccgtggagtg 1200
ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga 1260
cggctccttc ttctcttaca gcaagctcac cgtggacaag agcagggtggc agcaggggaa 1320
cgtcttctca tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaa cactacacgc agaagagcct 1380
ctccctgtct ccgggtaaat ga 1402
```

20

<210> 40

<211> 765

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

25

<223> Cadenas ligeras de hB7v4V1-hG1 y hB7v3v1-hG1

<400> 40

```

tttccatggg tcttttctgc agtcaccgtc cttgacacga agcttgccgc caccatggac 60
atgaggggtct ctgctcagct cctgggggtc ctgctgctct ggctctcagg agccagatgt 120
gacatccaga tgacacagtc tccatcttcc ctgtctgcat ctataggaga cagagtcact 180
atcacttgca aggcgagtc ggacattaat agctatttaa gctgggtacca gcagaaacca 240
gggaaagctc ctaagtccct gatctatcgt gcaaacagat tggtagatgg ggttccatca 300
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat tatactctca ccatcagcag cctgcagcct 360
gaagatttcg cagtttatta ttgtctacag tatgatgagt ttccgtacac gttcggaggg 420
gggaccaagc tggaaataaa acgtacgggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcga 480
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttggtg gcctgctgaa taacttctat 540
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 600
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 660
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 720
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 765

```

<210> 41  
 <211> 1402  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Cadenas pesadas de hB7V3v1-hG1 y hB7v3v2-hG1

<400> 41

```

catgggatgg agccggatct ttctcttctc cctgtcaata attgcagggtg tccattgccca 60
ggtccagctg caacagctctg gatctgagct gaagaagcct ggggcttcag tgaagatctc 120
ctgcaaggct tctggttatt cattcactga ctacatcata ctctgggtga ggcagaaccc 180
tggaaagggc cttgagtggg ttggacatat tgatccttac tatggtagtt ctaactacaa 240
tctgaaattc aagggcagag tgacaatcac cgccgaccag tctaccacca cagcctacat 300
ggagctctcc agtctgagat ctgaggacac tgcagtctat tactgtggaa gatctaagag 360
ggactacttt gactactggg gccaaaggac cactctcaca gtttcctcag cctccaccaa 420
gggcccacgc gtcttccgcg tagcaccttc ctccaagagc acctctgggg gcacagcggc 480
cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccgggtg acggtgtcgt ggaactcagg 540
cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta cagtcctcag gactctactc 600
cctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag cagcttgggc acccagacct acatctgcaa 660
cgtgaatcac aagcccagca acaccaagggt ggacaagaga gttgagccca aatcttgtga 720
caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc ctgggggggac cgtcagtcct 780
cctcttcccc ccaaaaccca aggacacctt catgatctcc cggacccctg aggtcacatg 840
cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagacct tgaggctcaag ttcaactggt acgtggacgg 900

```

```

cgtggaggtg cataatgccca agacaaagcc gcgggaggag cagtacaaca gcacgtaccg 960
tgtggtcagc gtcctcaccg tcttgcacca ggactggctg aatggcaagg agtacaagtg 1020
caagggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg 1080
gcagccccga gaaccacagg tgtacacctt gccccatcc cgggaggaga tgaccaagaa 1140
ccagggtcagc ctgacctgcc tggtaaaagg cttctatccc agcgacatcg ccgtggagtg 1200
ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga 1260
cggctccttc ttctcttaca gcaagctcac cgtggacaag agcagggtggc agcaggggaa 1320
cgtcttctca tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct 1380
ctccctgtct ccgggtaaat ga 1402

```

<210> 42  
 <211> 765  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Cadenas ligeras de hB7v3v2-hG1 y hB7v3v2-hG2G4

<400> 42

```

tttccatggg tcttttctgc agtcaccgtc ctgacacga agcttgccgc caccatggac 60
atgaggggtct ctgctcagct cctgggggtc ctgctgctct ggctctcagg ggccaggtgt 120
gacatccaga tgacacagtc tccatcttcc ctgtctgcat ctataggaga cagagtcact 180
atcacttgca aggcgagtc ggacattaat agctatttaa gctgggtcca gcagaaacca 240
gggaaagctc ctaagctgct gatctatcgt gcaaacagat tggtagatgg gggtccatca 300
agggttcagt gacgtggatc tgggacagat tatactctca ccatcagcag cctgcagcct 360
gaagatttcg cagtttatta ttgtctacag tatgatgagt ttccgtacac gttcggaggg 420
gggaccaagc tggaaataaa acgtacgggt gctgcacccat ctgtcttcat cttcccgcga 480
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 540
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactcccag 600
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggag agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 660
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccacagggc 720
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 765

```

<210> 43  
 <211> 2159  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Cadena pesada de hB7v3v2-hG2G4

<400> 43

```

ccaccagaca taatagctga cagactaaca gactgttcct ttccatgggt cttttctgca 60
gtcaccgtcc ttgacacgaa gcttgccgcc accatgggat ggagccggat ctttctcttc 120
ctcctgtcaa taattgcagg tgtccattgc caggtccagc tgcaacagtc tggatctgag 180
ctgaagaagc ctggggcttc agtgaagatc tcctgcaagg cttctgggta ttatttact 240
gactacatca tactctgggt gaggcagaac cctggaaagg gccttgagtg gattggacat 300
attgatcctt actatggtag ttctaactac aatctgaaat tcaagggcag agtgacaatc 360
accgccgacc agtctaccac cacagcctac atggagctct ccagtctgag atctgaggac 420
actgcagtct attactgtgg aagatctaag agggactact ttgactactg gggccaaggc 480
accactctca cagtttcctc agcctccacc aaggggccat ccgtcttccc cctggcgccc 540
tgctccagga gcacctccga gagcacagcc gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc 600
cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca ggcgccctga ccagcgccgt gcacaccttc 660
ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac tcctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc 720
agcaacttcg gcacccagac ctacacctgc aacgtagatc acaagcccag caacaccaag 780
gtggacaaga cagttgggtga gaggcagctc cagggaggga ggggtgtctg tggagccag 840
gtcagccct cctgcctgga cgcaccccg ctgtgcagcc ccagcccagg gcagcaaggc 900
aggcccccac tgtctcctca cccggaggcc tctgcccgcc ccactcatgc tcaggagagag 960
ggctctctgg ctttttccac caggctccag gcaggcacag gctgggtgcc cctaccccag 1020
gcccttcaca cacaggggca ggtgcttggc tcagacctgc caaaagccat atccgggagg 1080
accctgcccc tgacctaaagc cgaccccaaa ggccaaactg tccactccct cagctcggac 1140
accttctctc ctcccagatc cgagtaactc ccaatcttct ctctgcagag cgcaaatgtt 1200
gtgtcgagtg cccaccgtgc ccaggtaagc cagcccaggc ctgcctctcc agctcaaggc 1260
gggacaggtg ccctagagta gcctgcattc agggacaggc cccgctgggt gctgacacgt 1320
ccacctccat ctcttctcca gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc ctcttcccc 1380
caaaacccaa ggacacctc atgatctccc ggacccctga ggtcacgtgc gtggtggtgg 1440
acgtgagcca ggaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggatggc gtggaggtgc 1500
ataatgcca gacaaagccg cgggaggagc agttcaacag cacgtaccgt gtggtcagcg 1560

```

```

tcctcaccgt cctgcaccag gactgggtga acggcaagga gtacaagtgc aaggtctcca 1620
acaaaggcct cccgtcctcc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaagggt gggacccacg 1680
gggtgcgagg gccacatgga cagaggtcag ctccggccac cctctgccct gggagtgcac 1740
gctgtgcca cctctgtccc tacagggcag ccccgagagc cacagggtga caccctgccc 1800
ccatcccagg agggatgac caagaaccag ctgagcctga cctgcctggt caaaggcttc 1860
taccacagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 1920
accacgctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcag gctaaccgtg 1980
gacaagagca ggtggcagga ggggaatgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 2040
cacaaccact acacacagaa gagcctctcc ctgtctctgg gtaaatgatg agaattcatt 2100
gatcataatc agccatacca catttgtaga ggttttactt gctttaaaaa acctcccac 2159

```

<210> 44  
 <211> 1600

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Cadena pesada de chC2aB7-hG2G4

<400> 44

```

gctgacagac taacagactg ttcctttcca tgggtctttt ctgcagtcac cgtccttgac 60
acgagggcgc ccgccaccat gggatggagc tgtatcatcc tcttcttggt agcaacagct 120
acaggtgtcc actccctcga ggtccagctg caacagtctg gacctgagct ggtgaagcct 180
ggggcttcac tgaagatgtc ctgcaaggct tctggttatt cattactga ctacatcata 240
ctctgggtga agcagaacca tggaaagagc cttgagtgga ttggacatat tgatccttac 300
tatggtagtt ctaactacaa tctgaaattc aagggcaagg ccacattgac tgtagacaaa 360
tcttcagca cagcctacat gcagctcaac agtctgacat ctgaggactc tgcagtctat 420
tactgtggaa gatctaagag ggactacttt gactactggg gccaaggcac cactctcaca 480
gtttcctcag cctccaccaa gggcccatcc gtcttcccc tggcgccctg ctccaggagc 540
acctccgaga gcacagccgc cctgggctgc ctgggtcaagg actacttccc cgaaccgggtg 600
acggtgtcgt ggaactcagg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta 660
cagtcctcag gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag caacttcggc 720
acccagacct acacctgcaa cgtagatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaca 780
gttgggtgaga ggccagctca gggagggagg gtgtctgctg gaagccaggc tcagccctcc 840
tgcttgagcg caccctggct gtgcagcccc agcccagggc agcaaggcag gcccctctg 900
tctctcacc cggagggctc tgcccgcccc actcatgctc agggagaggg tcttctggct 960
ttttccacca ggctccaggc aggcacaggc tgggtgcccc taccctaggc ccttcacaca 1020
caggggcagg tgcttggtc agacctgcca aaagccatat ccgggaggac cctgccccctg 1080
acctaaagccg accccaaagg ccaaactgtc cactccctca gctcggacac cttctctctc 1140
cccagatccg agtaactccc aatcttctct ctgcagagcg caaatgttgt gtcgagtgcc 1200
caccgtgccc aggtaagcca gcccaggcct cgccctccag ctcaaggcgg gacaggtgcc 1260
ctagagtagc ctgcatccag ggacaggccc cagctgggtg ctgacacgtc cactctcatc 1320
tcttctcag caccacctgt ggcaggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag 1380
gacaccctca tgatctcccg gacccctgag gtcacgtgcg tgggtggtgga cgtgagccag 1440
gaagaccccg aggtccagtt caactggtac gtggatggcg tggaggtgca taatgccaaag 1500
acaaagccgc gggaggagca gttcaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc 1560
ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggag tacaagtgca 1600

```

10

<210> 45

<211> 337

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Cadena pesada de chC2aB7-hG2G4

<400> 45

20

```

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

```

[illegible]

<210> 46  
<211> 735  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Cadena ligera de chC2aB7-hG2G4

<400> 46

|            |            |             |             |             |             |     |
|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-----|
| aagcttgccg | ccaccatggg | atggagctgt  | atcatcctct  | tcttggtagc  | aacagctaca  | 60  |
| ggtgtccact | ctagagacat | ccagatgaca  | cagtctccat  | cttccatgta  | tgcattctagg | 120 |
| agagagagtc | actatcactt | gcaaggcgag  | ctaggacatt  | aatagcattt  | aagctggttc  | 180 |
| cagcagaaac | cagggaaatc | tctaagacc   | ctgattctatc | gtgcacaacag | attggtagat  | 240 |
| ggggttccat | caaggttcag | tggcagtggg  | tctgggcaag  | attattctct  | caccatcagc  | 300 |
| agcctggagt | atgaagatat | gggaatttat  | tattgtctac  | agtatgatga  | gtttccgtac  | 360 |
| acgttcggag | gggggaccaa | gctggaaaata | aaacggactg  | tggctgcacc  | atctgtcttc  | 420 |
| atcttcccgc | catctgatga | gcagttgaaa  | tctggaactg  | cctctgttgt  | gtgcctgctg  | 480 |
| aataacttct | atcccagaga | ggccaaagta  | cagtgggaag  | tggataacgc  | cttccaatcg  | 540 |
| ggtaactccc | aggagagtgt | cacagagcag  | gacagcaagg  | acagcaccta  | cagcctcagc  | 600 |
| agcaccttga | cgctgagcaa | agcagactac  | gagaaacaca  | aagtctacgc  | ctgcgaagtc  | 660 |
| accctacagg | gcttgagctc | gcccgtcaca  | aagagcttca  | acaggggaga  | gtgttcagcg  | 720 |
| gccgcaattc | attga      |             |             |             |             | 735 |

<210> 47  
<211> 240  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Cadena ligera de chC2aB7-hG2G4

<400> 47

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

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

- 5 <210> 48  
 <211> 1560  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial
- 10 <220>  
 <223> Cadena pesada de hB7v3v2-cG2G4
- <400> 48

```

ccaccagaca taatagctga cagactaaca gactgttcct ttccatgggt cttttctgca 60
gtcaccgtcc ttgacacgaa gcttgccgcc accatgggat ggagccggat ctttctcttc 120
ctcctgtcaa taattgcagg tgtccattgc cagggtccagc tgcaacagtc tggatctgag 180
ctgaagaagc ctggggcttc agtgaagatc tcctgcaagg cttctgggta ttcattcact 240
gactacatca tactctgggt gaggcagaac cctggaaaagg gccttgagtg gattggacat 300
attgatcctt actatggtag ttctaactac aatctgaaat tcaagggcag agtgacaatc 360
accgccgacc agtctaccac cacagcctac atggagctct ccagtctgag atctgaggac 420
actgcagtct attactgttg aagatctaag agggactact ttgactactg gggccaaggc 480
accactctca cagtttcttc agcctccacc aaggggccat ccgtcttccc cctggcgccc 540
tgctccagga gcacctccga gagcacagcc gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc 600
cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc 660
ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac tccctcagca gcgtggtgac cgtgcccttc 720
agcaacttcg gcacctagac ctacacctgc aacgtagatc acaagcccag caacaccaag 780
gtggacaaga cagttgagcg caaatgttgt gtcgagtgcc caccgtgccc agcaccacct 840
gtggcaggac cgtcagtcct cctcttcccc ccaaaaccca aggacacctt catgatctcc 900
cggacccctg aggtcacgtg cgtgggtggg gacgtgagcc aggaagacct cgaggtccag 960
ttcaactggg acgtggatgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 1020
cagttcaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg 1080
aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaaggcc tcccgtcttc catcgagaaa 1140
accatctcca aagccaaagg gcagccccga gagccacagg tgtaaccttc gcccccatcc 1200
caggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctacccc 1260
agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 1320
cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttctctaca gcaggctaac cgtggacaag 1380
agcaggtggc aggaggggaa tgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac 1440
cactacacac agaagagcct ctccctgtct ctgggtaaat gatgagaatt cattgatcat 1500
aatcagccat accacatttg tagaggtttt acttgcctta aaaaacctcc cacacctccc 1560

```

<210> 49  
 <211> 772  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Cadena ligera de hB7v3v2-cG2G4

<400> 49

```

ctgttccttt ccatgggtct tttctgcagt caccgtcctt gacacgaagc ttgccgccac 60
catggacatg aggggtctctg ctgagctcct ggggtcctg ctgctctggc tctcaggggc 120
cagggtgtgac atccagatga cacagtctcc atcttccctg tctgcatcta taggagacag 180
agtcactatc acttgcaagg cgagtcagga cattaatagc tatttaagct ggttccagca 240
gaaaccaggg aaagctccta agctgctgat ctatcgtgca aacagattgg tagatggggg 300
tccatcaagg ttcagtggca gtggatctgg gacagattat actctacca tcagcagcct 360
gcagcctgaa gatttcgcag tttattattg tctacagtat gatgagttc cgtacacgtt 420
cggagggggg accaagctgg aaataaaacg tacgggtggc gcaccatctg tcttcatctt 480
cccgccatct gatgagcagt tgaaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc tgctgaataa 540
cttctatccc agagaggcca aagtacagtg gaaggtggat aacgcccctc aatcgggtaa 600
ctcccaggag agtgtcacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac 660
cctgacgctg agcaaaagcag actacgagaa acacaaagtc tacgcctgcg aagtcaacca 720
tcagggcctg agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgtt ag 772

```

<210> 50  
 <211> 2158  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Cadena pesada de DIB5-hG1

<400> 50

|             |             |             |             |             |            |      |
|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|------|
| gcgcgccacc  | agacataata  | gctgacagac  | taacagactg  | tccctttcca  | tgggtctttt | 60   |
| ctgcagtcac  | cgtccttgac  | acgaggcgcg  | ccgccaccat  | gggatggagc  | tgtatcatcc | 120  |
| tcttcttggg  | agcaacagct  | acagggtgtc  | actccctcga  | ggtccaactg  | cagcagcctg | 180  |
| gggcagagct  | tgtgaggtca  | ggggcctcag  | tcaagttgtc  | ctgcaaagct  | tctggcttca | 240  |
| acattaaaga  | ctactatata  | cactgggtga  | agcagaggcc  | tgaacagggc  | ctggagtggg | 300  |
| ttggatggat  | tgatcctgag  | attgggtgcta | ctaaatatgt  | cccgaagttc  | cagggcaagg | 360  |
| ccactatgac  | tacagacaca  | tcctccaaca  | cagcctacct  | gcagctcagc  | agcctgacat | 420  |
| ctgaggacac  | tgccgtctat  | tactgtaatg  | ccctctatgg  | taactacgac  | cgttactatg | 480  |
| ctatggacta  | ctgggggtcaa | ggaacctcag  | tcaccgtctc  | ctcagcctcc  | accaagggcc | 540  |
| catcggtctt  | ccccctggca  | ccctcctcca  | agagcacctc  | tggcggcaca  | gcggccctgg | 600  |
| gctgcctggg  | caaggactac  | ttccccgaac  | cgggtgacgg  | gtcgtggaac  | tcaggcgccc | 660  |
| tgaccagcgg  | cgtgcacacc  | ttcccggctg  | tcctacagtc  | ctcaggactc  | tactcctcca | 720  |
| gcagcgtggg  | gaccgtgccc  | tcacgaccca  | tgggcaccac  | gacctacatc  | tgcaacgtga | 780  |
| atcacaagcc  | cagcaaacacc | aagggtggaca | agagagttgg  | tgagaggcca  | gcacagggag | 840  |
| ggaggggtgtc | tgctggaagc  | caggctcagc  | gctcctgcct  | ggacgcaccc  | cggctatgca | 900  |
| gtcccagtc   | agggcagcaa  | ggcaggcccc  | gtctgcctct  | tcaccgggag  | gcctctgccc | 960  |
| gccccactca  | tgctcaggga  | gagggtcttc  | tggctttttc  | cccaggctct  | gggcaggcac | 1020 |
| aggctaggtg  | cccctaacc   | aggccttgca  | cacaaagggg  | cagggtgctg  | gctcagacct | 1080 |
| gccaagagcc  | atatccggga  | ggaccctgcc  | cctgacctaa  | gcccacccca  | aaggccaaac | 1140 |
| tctccactcc  | ctcagctcgg  | acaccttctc  | tcctcccaga  | ttccagtaac  | tcccaatctt | 1200 |
| ctctctgcag  | agcccaaatc  | ttgtgacaaa  | actcacacat  | gcccaccgtg  | cccaggtaag | 1260 |
| ccagcccagg  | cctcgccctc  | cagctcaagg  | cgggacaggt  | gccctagagt  | agcctgcatc | 1320 |
| cagggacagg  | ccccagccgg  | gtgctgacac  | gtccacctcc  | atctcttctt  | cagcacctga | 1380 |
| actcctgggg  | ggaccgtcag  | tcttctctct  | ccccccaaaa  | cccaaggaca  | ccctcatgat | 1440 |
| ctcccggacc  | cctgaggtca  | catgcgtggg  | gggtggacgtg | agccacgaag  | accctgaggt | 1500 |
| caagttcaac  | tggtacgtgg  | acggcgtgga  | gggtgcataat | gccaagacaa  | agccgcggga | 1560 |
| ggagcagtac  | aacagcacgt  | accgtgtggg  | cagcgtcctc  | accgtcctgc  | accaggactg | 1620 |
| gctgaatggc  | aaggagtaca  | agtgcaagg   | ctccaacaaa  | gccctcccag  | ccccatcga  | 1680 |
| gaaaaccatc  | tccaaagcca  | aagggtgggac | ccgtgggggtg | cgaggggccac | atggacagag | 1740 |
| gccggctcgg  | cccacctct   | gccctgagag  | tgaccgctgt  | accaacctct  | gtccctacag | 1800 |
| ggcagccccg  | agaaccacag  | gtgtacaccc  | tgcccccatc  | ccgggaggag  | atgaccaaga | 1860 |
| accaggtcag  | cctgacctgc  | ctgggtcaaa  | gcttctatcc  | cagcgacatc  | gccgtggagt | 1920 |
| gggagagcaa  | tgggcagccg  | gagaacaact  | acaagaccac  | gcctcccgtg  | ctggactccg | 1980 |
| acggctcctt  | cttctcttat  | agcaagctca  | ccgtgggacaa | gagcagggtg  | cagcagggga | 2040 |
| acgtcttctc  | atgctccgtg  | atgcatgagg  | ctctgcacaa  | ccactacacg  | cagaagagcc | 2100 |
| tctccctgtc  | cccgggtaaa  | tgagtgcgac  | ggccagaatt  | cattgatcat  | aatcagcc   | 2158 |

<210> 51  
 <211> 720  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Cadena ligera de DIB5-hG1

<400> 51

|            |            |             |            |            |            |     |
|------------|------------|-------------|------------|------------|------------|-----|
| aagcttgccg | ccaccatggg | atggagctgt  | atcatcctct | tcttggtagc | aacagctaca | 60  |
| ggtgtccact | ctagagacat | tgtgatgacc  | cagtctcaaa | aattcatgtc | cacatcagta | 120 |
| ggagacaggg | tcagcatcac | ctgcaaggcc  | agtcagaatg | ttcgtactgc | tgtagcctgg | 180 |
| tatcaacaga | aaccagggca | gtctcctaaa  | gcactgattt | acttggcatc | caaccggcac | 240 |
| actggagtc  | ctgatcgctt | cacaggcagt  | ggatctggga | cagatttcac | tctcaccatt | 300 |
| agcaatgtgc | aatctgaaga | cctggcagat  | tatttctgtc | tgcaacattg | gaattatcct | 360 |
| ctcacgttcg | gtgctgggac | caagctggag  | ctgaaacgga | ctgtggctgc | accatctgtc | 420 |
| ttcatcttcc | cgccatctga | tgagcagttg  | aaatctggaa | ctgcctctgt | tgtgtgcctg | 480 |
| ctgaataact | tctatcccag | agaggccaaa  | gtacagtggg | aggtggataa | cgcctcccaa | 540 |
| tcgggtaact | cccaggagag | tgctcacagag | caggacagca | aggacagcac | ctacagcctc | 600 |
| agcaacaccc | tgacgctgag | caaagcagac  | tacgagaaac | acaaagtcta | cgcttgccaa | 660 |
| gtcaccatcc | agggcctgag | ctcgcccgtc  | acaaagagct | tcaacagggg | agagtgttaa | 720 |

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD200, en la que el anticuerpo anti-CD200:

- (i) inhibe la interacción entre CD200 y CD200R; y
- (ii) comprende una región constante Fc variante que:

(a) es una región constante Fc variante en la que las regiones CH1 y bisagra derivan de la IgG2 humana y las regiones CH2 y CH3 derivan de la IgG4 humana;

(b) comprende una o ambas de: (A) una sustitución de fenilalanina por alanina en la posición 234 y (B) una sustitución de leucina por alanina en la posición 235 de acuerdo con el índice EU;

(c) comprende una mutación K322A en el dominio CH2 de acuerdo con el índice EU;

o

(d) carece de una región bisagra.

2. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el anticuerpo anti-CD200 es un anticuerpo murino, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo desinmunizado o un anticuerpo humano.

3. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el anticuerpo anti-CD200 comprende:

I.

(a) un polipéptido de cadena ligera que comprende:

(i) los restos de aminoácidos 21 a 127 de la SEQ ID NO: 24; o

(ii) los restos de aminoácidos 21 a 234 de la SEQ ID NO: 24; y

(b) un polipéptido de cadena pesada que comprende:

(iii) los restos de aminoácidos 21 a 137 de la SEQ ID NO: 15; o

(iv) los restos de aminoácidos 21 a 463 de la SEQ ID NO: 15;

II.

(a) un polipéptido de cadena ligera que comprende:

(i) los restos de aminoácidos 21 a 127 de la SEQ ID NO: 32; o

(ii) los restos de aminoácidos 21 a 234 de la SEQ ID NO: 32; y

(b) un polipéptido de cadena pesada que comprende:

(iii) los restos de aminoácidos 21 a 142 de la SEQ ID NO: 20;

III.

(a) un polipéptido de cadena ligera que comprende:

(i) los restos de aminoácidos 23 a 129 de la SEQ ID NO: 28; o

(ii) los restos de aminoácidos 23 a 236 de la SEQ ID NO: 28; y

(b) un polipéptido de cadena pesada que comprende:

(iii) los restos de aminoácidos 20 a 136 de la SEQ ID NO: 13; o

(iv) los restos de aminoácidos 20 a 462 de la SEQ ID NO: 13; o

IV.

(a) un polipéptido de cadena pesada que comprende:

(i) los restos de aminoácidos 20 a 136 de la SEQ ID NO: 11; o

(ii) los restos de aminoácidos 20 a 136 de la SEQ ID NO: 9; y

(b) un polipéptido de cadena ligera que comprende los restos de aminoácidos 23 a 129 de la SEQ ID NO: 26.

4. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la región constante Fc variante no tiene actividad de ADCC o de CDC.
- 5 5. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para su uso en el tratamiento de cáncer.
6. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en la que el cáncer comprende células cancerosas que expresan CD200.
- 10 7. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en la que las células cancerosas sobreexpresan CD200 con respecto a las células normales que son del mismo tipo histológico que las células de las que derivan las células cancerosas.
- 15 8. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en la que el cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en un cáncer de células de la cresta neuronal, cáncer de células plasmáticas, un linfoma, leucemia, cáncer de ovario, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer renal, cáncer de mama, cáncer de próstata, neuroblastoma y mieloma.
- 20 9. Un anticuerpo anti-CD200 para su uso en el tratamiento de cáncer, en el que el anticuerpo anti-CD200:
  - (i) inhibe la interacción entre CD200 y CD200R; y
  - (ii) comprende una región constante Fc variante que:
    - 25 (a) es una región constante Fc variante en la que las regiones CH1 y bisagra derivan de IgG2 humana y las regiones CH2 y CH3 derivan de IgG4 humana;
    - (b) comprende una o ambas de: (A) una sustitución de fenilalanina por alanina en la posición 234 y (B) una sustitución de leucina por alanina en la posición 235 de acuerdo con el índice EU;
    - (c) comprende una mutación K322A en el dominio CH2 de acuerdo con el índice EU;
    - 30 o
    - (d) carece de una región bisagra.
- 35 10. El anticuerpo anti-CD200 de acuerdo con la reivindicación 9 para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en la que el anticuerpo anti-CD200 es un anticuerpo murino, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo desinmunizado, o un anticuerpo humano.
- 40 11. El anticuerpo anti-CD200 de acuerdo con la reivindicación 9 para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en la que el anticuerpo anti-CD200 comprende:
  - I.
    - 45 (a) un polipéptido de cadena ligera que comprende:
      - (i) los restos de aminoácidos 21 a 127 de la SEQ ID NO: 24; o
      - (ii) los restos de aminoácidos 21 a 234 de la SEQ ID NO: 24; y
      - 50 (b) un polipéptido de cadena pesada que comprende:
        - (iii) los restos de aminoácidos 21 a 137 de la SEQ ID NO: 15; o
        - (iv) los restos de aminoácidos 21 a 463 de la SEQ ID NO: 15;
        - 55 (b) un polipéptido de cadena pesada que comprende:
          - (i) los restos de aminoácidos 21 a 127 de la SEQ ID NO: 32; o
          - (ii) los restos de aminoácidos 21 a 234 de la SEQ ID NO: 32; y
          - (b) un polipéptido de cadena pesada que comprende:
            - (iii) los restos de aminoácidos 21 a 142 de la SEQ ID NO: 20;
            - 60
      - III.
        - (a) un polipéptido de cadena ligera que comprende:
          - (i) los restos de aminoácidos 23 a 129 de la SEQ ID NO: 28; o
          - 65

(ii) los restos de aminoácidos 23 a 236 de la SEQ ID NO: 28; y

(b) un polipéptido de cadena pesada que comprende:

- 5 (iii) los restos de aminoácidos 20 a 136 de la SEQ ID NO: 13; o
- (iv) los restos de aminoácidos 20 a 462 de la SEQ ID NO: 13; o

IV.

- 10 (a) un polipéptido de cadena pesada que comprende:

- (i) los restos de aminoácidos 20 a 136 de la SEQ ID NO: 11; o
- (ii) los restos de aminoácidos 20 a 136 de la SEQ ID NO: 9; y

- 15 (b) un polipéptido de cadena ligera que comprende los restos de aminoácidos 23 a 129 de la SEQ ID NO: 26.

12. El anticuerpo anti-CD200 de acuerdo con la reivindicación 9 para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en la que la región constante Fc variante no tiene actividad de ADCC o de CDC.

- 20 13. El anticuerpo anti-CD200 de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9-12 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9-12, en las que el cáncer comprende células cancerosas que expresan CD200.

- 25 14. El anticuerpo anti-CD200 de acuerdo con la reivindicación 13 para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en la que las células cancerosas sobreexpresan CD200 con respecto a las células normales que son del mismo tipo histológico que las células de las que derivan las células cancerosas.

- 30 15. El anticuerpo anti-CD200 de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9-14 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9-14, en las que el cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en un cáncer de células de la cresta neuronal, cáncer de células plasmáticas, un linfoma, leucemia, cáncer de ovario, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer renal, cáncer de mama, cáncer de próstata, neuroblastoma, y mieloma.

- 35 16. El anticuerpo anti-CD200 de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9-15 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9-15, en las que un segundo agente o una terapia se va a administrar al paciente.

17. El anticuerpo anti-CD200 de acuerdo con la reivindicación 16 para su uso de acuerdo con la reivindicación 16, en la que el segundo agente es un agente quimioterapéutico.

- 40 18. El anticuerpo anti-CD200 de acuerdo con la reivindicación 16 para su uso de acuerdo con la reivindicación 16, en la que la terapia es una radioterapia.

**FIGURA 1**

Cebador C7mhHF (SEQ ID NO: 1)  
TCCTCAGCCTCCACCAAGGGCC

**FIGURA 2**

Cebador Rev Age Pri (SEQ ID NO: 2)  
GGGCGCCTGAGTCCACGAC

**FIGURA 3**

Cebador C2aB7 rev (SEQ ID NO: 3)  
GGCCCTTGGTGGAGGCTGAGGAACTGTGAGAGTGGTGC

**FIGURA 4**

lacpri (SEQ ID NO: 4)  
GCTCCCGGCTCGTATGTTGTGT

**FIGURA 5**

LeadVHpAX (SEQ ID NO: 5)  
ATATGAAATATCTGCTGCCGACCG

**FIGURA 6A** Nota: Las Figs. 6-15, secuencias líder (AA) están subrayadas y las regiones constantes están en letra negrita.

chC2aB7-hG1

Cadena pesada (intrones en hG1) (SEQ ID NO: 7)

MGWSCILFLVATATGVHSLEVQLQQSGPELVKPGASLKMSCKASGYSFT  
 DYIILWVKQNHGKSLEWIGHIDPYYGSSNYNLKFKGKATLTVDKSSSTAY  
 MQLNSLTSEDSAVYYCGRSKRDYFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLA  
 PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS  
 GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT  
 CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV  
 KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE  
 YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT  
 CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK  
 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

**FIGURA 6B**

(SEQ ID NO. 6) (secuencia genómica hg1)

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCTCGAG  
GTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCACTGAAGATGTCCTGC  
AAGGCTTCTGTTATTCACTGACTACATCATACTCTGGGTGAAGCAGAACCATGGAAAG  
AGCCTTGAGTGGATTGGACATATTGATCCTTACTATGGTAGTTCTAACTACAATCTGAAATTCA  
AGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAATCTTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAACAGT  
CTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGGAAGATCTAAGAGGGACTACTTTGACTAC  
TGGGGCCAAGGCCACCACTCTCACAGTTTCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCC  
CTGGCACCTCTCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGAC  
TACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACC  
TTCCCGGTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCA  
GCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG  
GACAAGAGAGTTGGTGAGAGGCCAGCACAGGGAGGGAGGGTGTCTGCTGGAAGCCAGGCTC  
AGCGCTCCTGCCTGGACGCATCCCGGCTATGCAGTCCAGTCCAGGGCAGCAAGGCAGGCC  
CGTCTGCCTCTTCAACCGGAGGCCCTCTGCCCCGCCCACTCATGCTCAGGGAGAGGGTCTTCTG  
GCTTTTTCCCCAGGCTCTGGGCAGGCACAGGCTAGGTGCCCTAACCAGGCCCTGCACACAA  
AGGGGCAGGTGCTGGGCTCAGACCTGCCAAGAGCCATATCCGGGAGGACCCTGCCCTGACC  
TAAGCCCCACCCAAAGGCCAACTCTCCTCCTCAGCTCGGACACCTTCTCTCTCTCCAGA  
TTCCAGTAACTCCCAATCTTCTCTCTGACAGGCCAAATCTTGTGACAAAATCACACATGCCC  
ACCGTGCCAGGTAAAGCCAGGCCAGGCCTCGCCCTCCAGCTCAAGGCGGGACAGGTGCCCTA  
GAGTAGCCTGCATCCAGGGACAGGCCCCAGCCGGGTGCTGACACGTCCACCTCATCTCTCC  
TCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCCTCAACCAAGGACACC  
CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCT  
GAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCG  
GGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACT  
GGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAG  
AAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGTGGGACCCGTGGGGTGGAGGGCCACATGGACAGAGGCC  
GGCTGGCCCCACCTCTGCCCTGAGAGTGACCGCTGTACCAACCTCTGTCCCTACAGGGCAGC  
CCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTC  
AGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT  
GGGCAGCCGGAGAACAATAAGACCAAGCGCTCCCGTGGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC  
CTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCC  
GTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAA  
TGA

Una representación esquemática de la cadena pesada del anticuerpo chC2aB7-hG1 (parte 1).

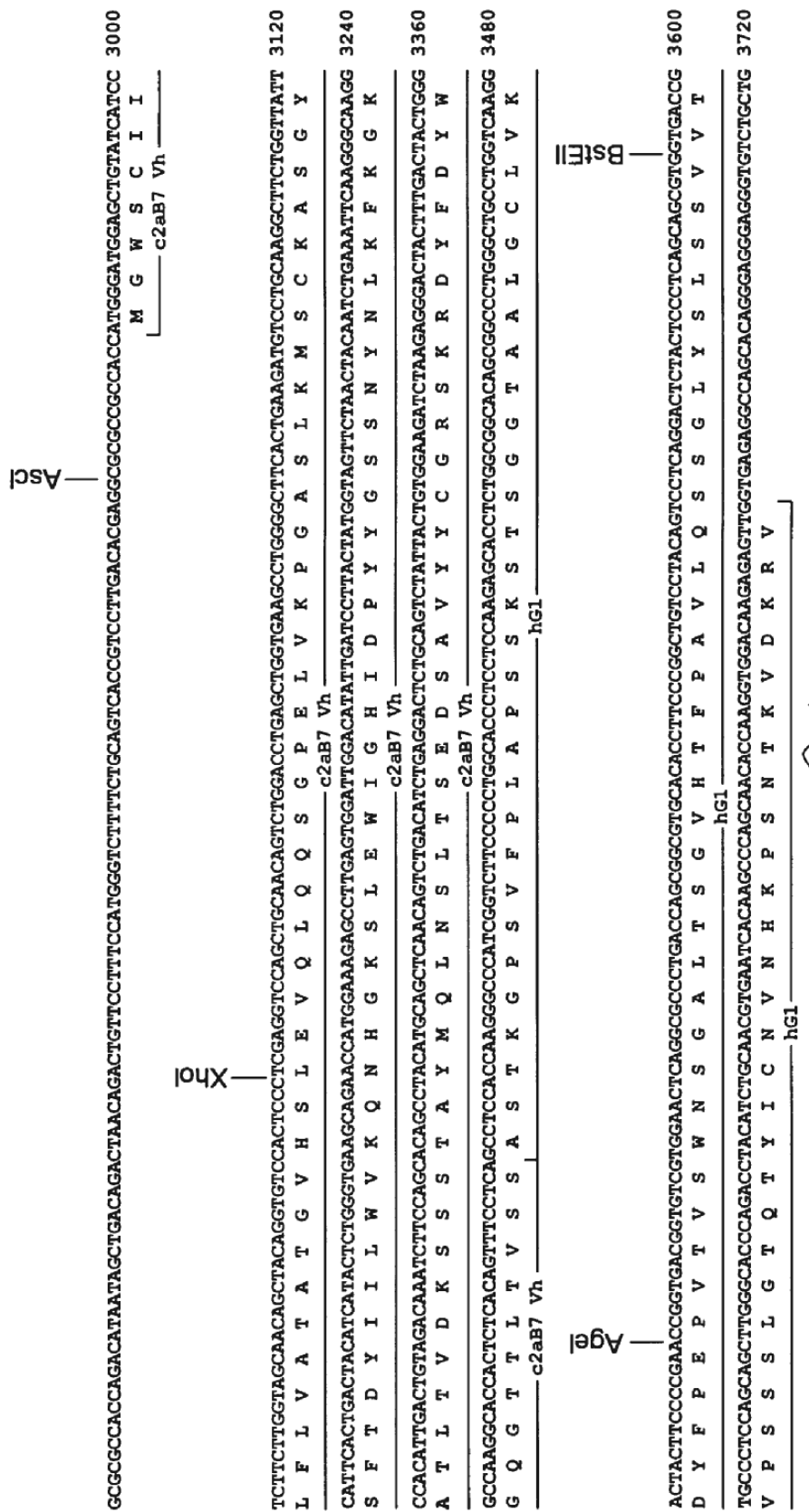


FIGURA 6C (parte 1)

FIGURA 6C (parte 2)

**FIGURA 6D**

Cadena ligera (Ck humano) (SEQ ID NO. 24)

MGWSCILFLVATATGVHSRDIQMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINSYL  
SWFQQKPGKSPKTLIYRANRLVDGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLEYEDMGII  
YCLQYDEFPYTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN  
FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYE  
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**FIGURA 6E**

(SEQ ID NO. 23)

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGT  
CCACTCTAGAGACATCCAGATGACACAGTCTCCATCTTCCATGTATGCATC  
TCTAGGAGAGAGAGTCACTATCACTTGCAAGGCGAGTCAGGACATTAATA  
GCTATTTAAGCTGGTTCCAGCAGAAACCAGGGAAATCTCCTAAGACCCCTG  
ATCTATCGTGCAAACAGATTGGTAGATGGGGTTCCATCAAGGTTCAAGTGG  
CAGTGGATCTGGGCAAGATTATTCTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGTATG  
AAGATATGGGAATTTATTATTGTCTACAGTATGATGAGTTTCCGTACACGT  
TCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAACGGACTGTGGCTGCACCATC  
TGTCCTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTC  
TGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGT  
GGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTAC  
AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACG  
CTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCA  
CCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGA  
GTGTAA

Una representación esquemática de la cadena ligera del anticuerpo chC2aB7-hG1.

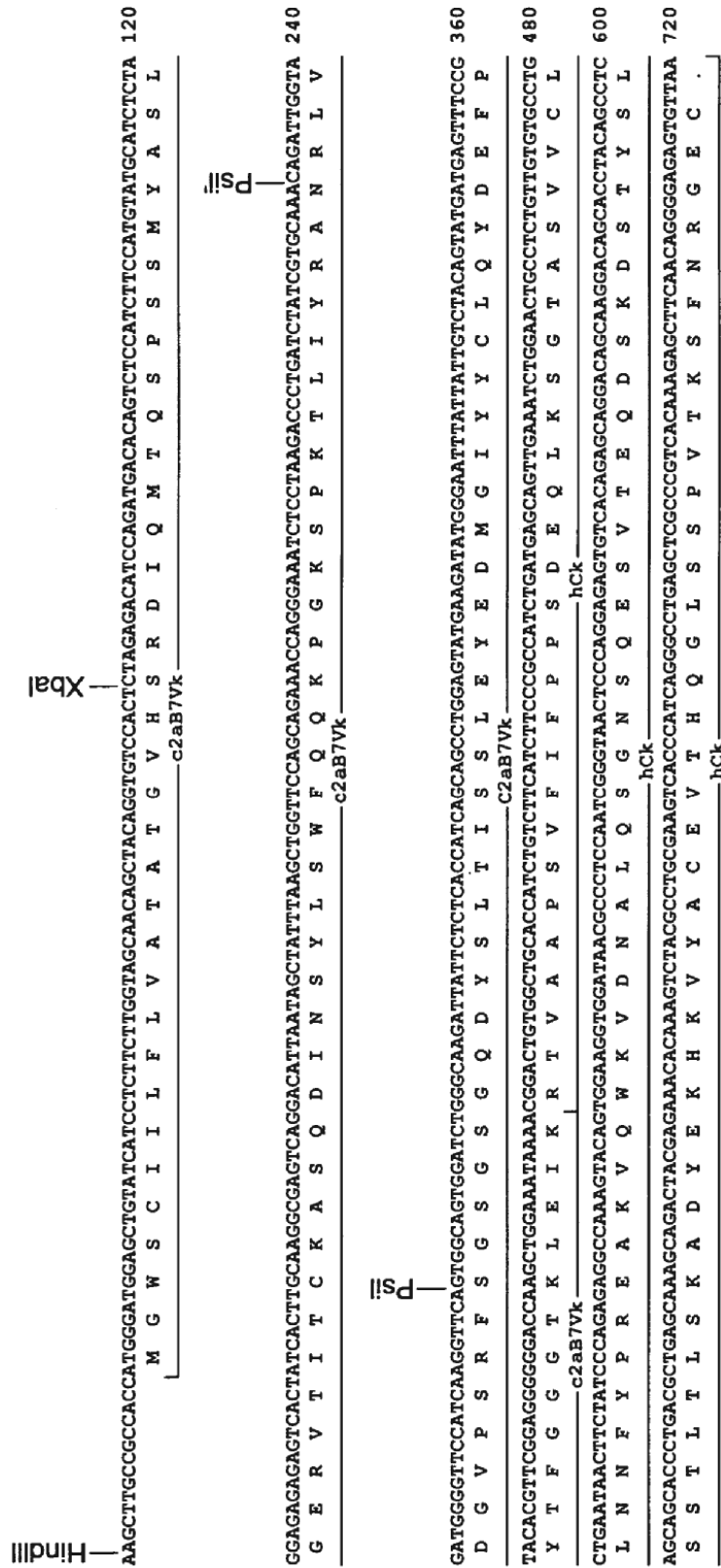


FIGURA 6F

Cadena pesada de  
hB7V4V1-hG1 (SEQ ID NO.9)

MGWSWIFLFLLSVTAGVFSEVQLVESGPEVKKPGASVKVSCKASGYSTFD  
YIILWIRQHSKGKLEWIGHIDPYYGSSNYNLKFGRVTITADKSTRTTYME  
LTSLTSEDTA VYYCGRSKRDYFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSS  
KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL  
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHHTCP  
PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF  
NWYVVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK  
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL  
VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR  
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

FIGURA 7A

**FIGURA 7B**

(SEQ ID NO. 8) (ADNc de hG1)

ATGGGATGGAGCTGGATCTTTCTCTTTCTCCTGTCAGTAACTGCAGGTG  
TGTCTCTGAGGTCCAGCTGGTGGAGTCCGGACCTGAGGTGAAGAAGC  
CTGGGGCTTCAGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCTGGTTATTCATTAC  
TGACTACATCATACTCTGGATCAGGCAGCATAGCGGAAAGGGCCTTGA  
GTGGATTGGACATATTGATCCTTACTATGGTAGTTCTAACTACAATCTG  
AAATTCAAGGGCAGGGTCACAATCACTGCAGACAAATCTACCAGGAC  
AACCTACATGGAGCTCACCAGTCTGACATCTGAGGACACTGCAGTCTA  
TTACTGTGGAAGATCTAAGAGGGGACTACTTTGACTACTGGGGCCAAGG  
CACCCTCTCACAGTTTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC  
CCGCTAGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTG  
GGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGG  
AACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTA  
CAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC  
AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCC  
AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAA  
AACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACC  
GTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCTCAAGGACACCCCTCATGATCTCC  
CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGA  
CCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAA  
TGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTG  
TGGTCAGCGTCCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGG  
AGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAG  
AAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA  
CACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCC  
TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT  
GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCC  
GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTG  
GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGAT  
GCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTC  
TCCGGGTAAATGA

CATGGGATGGAGCTGATCTTTCTCTCTGTCAGTAACTGAGGTGAGTCCGGACCTCGGAGTGAAGAAGCCCTGGGGCTTCAGTGAAGGTGTC 516P  
 M G W S I F L F L L S V T A G V F S E V Q L V E S G P E V K K P G A S V K V S  
 CTGCAAGGCTTCTGGTTATTCATTTCACTGACTGACATCATCTGATCAGGCAGCATAGCGGAAGGGCCCTTCAGTGGATGGACATATTTGATCCTTACTATGGTAGTTCCTAACTACAA 528P  
 C K A S G Y S F T D Y I I L W I R Q H S G K G L E W I G H I D P Y Y G S S N Y N  
 CTCTGAATTCGAAGGGCAGGGTCACATCACTGCAGACAAATCTACCAGGACAACTACATGAGCTCACAGTCTGACATCTGAGACACTGCAGTCTATTACTGTGGAGATCTTAAGAG 540P  
 L K F K G R V T I T A D K S T R T T Y M E L T S L T S E D T A V Y Y C G R S K R  
 GGACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGCACCACCTCTCACAGTTTCTTCAGCTCCACCAAGGCCCTTCGGTCTTCGGGTAGCACCTCTCCAGAGACACCTCTGGGGGCACAGCGGC 552P  
 D Y F D Y W G Q G T T L T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A  
 CTGGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGGCCCTGACAGCGGCGTGCACACCTTCCGGCTGTCTCTACAGTCTCCTCAGGACTCTACTC 564P  
 L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S

FIGURA 7C (parte 1)

Una representación esquemática de la cadena pesada del anticuerpo hB7V4V1-hG1 (parte 2).

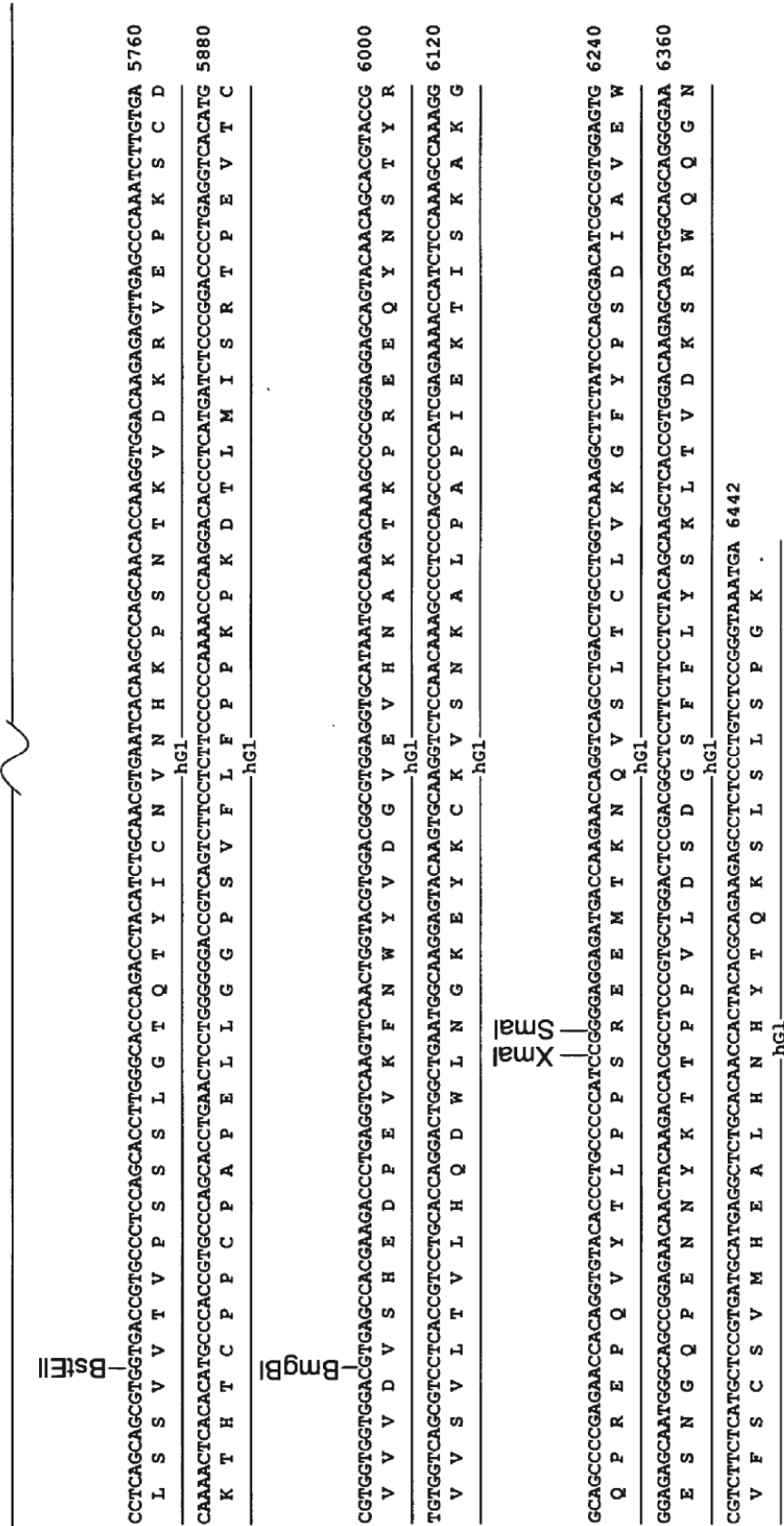


FIGURA 7C (parte 2)

**FIGURA 7D**

Cadena ligera (Ck humano) (SEQ ID NO. 26)

MDMRVSAOLLGLLLLWLSGARCDIQMTQSPSSLSASIGDRVTITCKASQD  
 INSYLSWYQQKPGKAPKSLIYRANRLVDGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQ  
 PEDFAVYYCLQYDEFPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT  
 ASVVCLLNNFYPREAQVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSL  
 STLTLTKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC

**FIGURA 7E**

(SEQ ID NO. 25)

ATGGACATGAGGGTCTCTGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGG  
 CTCTCAGGAGCCAGATGTGACATCCAGATGACACAGTCTCCATCTTCC  
 CTGTCTGCATCTATAGGAGACAGAGTCACTATCACTTGCAAGGCGAGT  
 CAGGACATTAATAGCTATTAAAGCTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAA  
 AGCTCCTAAGTCCCTGATCTATCGTGCAAACAGATTGGTAGATGGGGT  
 TCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTATACTCTCAC  
 CATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTCGCAGTTTATTATTGTCTACA  
 GTATGATGAGTTTCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAAT  
 AAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGAT  
 GAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC  
 TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTC  
 CAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGA  
 CAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACT  
 ACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTG  
 AGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG



Cadena pesada  
de hB7V3V1-hG1 (SEQ ID NO. 11)

MGWSRIFLFLLSIIAGVHCQVQLQQSGSELKKPGASVKISCKASGYSTDY  
IILWVRQNPGKGLEWIGHIDPYYGSSNYNLKFGRVTITADQSTTTAYME  
 LSSLRSEDTAVYYCGRSKRDYFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSS  
 KSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL  
 YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCP  
 PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF  
 NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK  
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL  
 VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR  
 WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

FIGURA 8A

**FIGURA 8B**

(SEQ ID NO. 10) (ADNc de hG1)

ATGGGATGGAGCCGGATCTTTCTCTTCTCCTCCTGTCAATAATTGCAGGTG  
TCCATTGCCAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGATCTGAGCTGAAGAAGC  
CTGGGGCTTCAGTGAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTATTCATTAC  
TGACTACATCATACTCTGGGTGAGGCAGAACCCTGGAAAGGGCCTTGA  
GTGGATTGGACATATTGATCCTTACTATGGTAGTTCTAACTACAATCTG  
AAATTCAAGGGCAGAGTGACAATCACCGCCGACCAGTCTACCACCAC  
AGCCTACATGGAGCTCTCCAGTCTGAGATCTGAGGACACTGCAGTCTA  
TACTGTGGAAGATCTAAGAGGGACTACTTTGACTACTGGGGCCAAGG  
CACCCTCTCACAGTTTCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC  
CCGCTAGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTG  
GGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGG  
AACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTTA  
CAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC  
AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCC  
AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAA  
AACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACC  
GTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCC  
CGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAGA  
CCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGGTGCATAA  
TGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTG  
TGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGG  
AGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAG  
AAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA  
CACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCC  
TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT  
GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCC  
GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTG  
GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGAT  
GCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTC  
TCCGGGTAAATGA



Cadena ligera (Ck humano) (SEQ ID NO. 26)

MDMRVSAQLLGLLLWLSGARCDIQMTQSPSSLSASIGDRVTITCKASQD  
INSYLSWYQQKPGKAPKSLIYRANRLVDGVPSRFGSGSGTDYTLTISSLQ  
PEDFAVYYCLQYDEFPYTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT  
ASVVCLLNFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLS  
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSENRGEC

FIGURA 8D

**FIGURA 8E**

**(SEQ ID NO. 25)**

ATGGACATGAGGGTCTCTGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGG  
CTCTCAGGAGCCAGATGTGACATCCAGATGACACAGTCTCCATCTTCC  
CTGTCTGCATCTATAGGAGACAGAGTCACTATCACTTGCAAGGCGAGT  
CAGGACATTAATAGCTATTTAAGCTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAA  
AGCTCCTAAGTCCCTGATCTATCGTGCAAACAGATTGGTAGATGGGGT  
TCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTATACTCTCAC  
CATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTCGCAGTTTATTATTGTCTACA  
GTATGATGAGTTTCCGTACACGTTCCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAAT  
AAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGAT  
GAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC  
TTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTC  
CAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGA  
CAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACT  
ACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTG  
AGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG.



Cadena pesada  
de hB7V3V2-hG1 (SEQ ID NO. 11)

MGWSRIFLFLLSIAGVHCQVQLQQSGSELKKPGASVKISCKASGYSFTDY  
 IILWVRQNPCKGLEWIGHIDPYYGSSNYNLKFGRVTITADQSTTTAYME  
 LSSLRSEDTAVYYCGRSKRDIYFDYWGGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSS  
 KSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL  
 YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP  
 PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF  
 NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK  
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL  
 VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR  
 WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

FIGURA 9A

**FIGURA 9B**

(SEQ ID NO. 10) (ADNc de hG1)

ATGGGATGGAGCCGGATCTTTCTCTTCCTCCTGTCAATAATTGCAGGTG  
TCCATTGCCAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGATCTGAGCTGAAGAAGC  
CTGGGGCTTCAGTGAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTATTCATTCAC  
TGACTACATCATACTCTGGGTGAGGCAGAACCCTGGAAAGGGCCTTGA  
GTGGATTGGACATATTGATCCTTACTATGGTAGTTCTAACTACAATCTG  
AAATTCAAGGGCAGAGTGACAATCACCGCCGACCAGTCTACCACCAC  
AGCCTACATGGAGCTCTCCAGTCTGAGATCTGAGGACACTGCAGTCTA  
TTACTGTGGAAGATCTAAGAGGGACTACTTTGACTACTGGGGCCAAGG  
CACCACCTCTCACAGTTTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC  
CCGCTAGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTG  
GGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTTG  
AACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTA  
CAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC  
AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCC  
AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAA  
AACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGGACC  
GTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCTAAACCCCAAGGACACCCTCATGATCTCC  
CGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGA  
CCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAA  
TGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTG  
TGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGG  
AGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAG  
AAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA  
CACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCC  
TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT  
GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCC  
GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTG  
GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGAT  
GCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTC  
TCCGGGTAAATGA

Una representación esquemática de la cadena ligera del anticuerpo hB7V3V2-hG1.

CATGGATGGAGCGGATCTTTCTCTCTCTCAATAATTGAGGTGTCATTGCCAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGATCTGAGCTGAAGAAGCCCTGGGGCTTCAGTGAAGATCTC 5160  
 M G W S R I F L F L L S I I A G V H C Q V Q L Q Q S G S E L K K P G A S V K I S  
 \_\_\_\_\_ lider \_\_\_\_\_ hB7V3 Vh  
 CTGCAAGGCTTCTGGTTATTCAATCACTGACTACATCACTCTGGGTGAGGCAGAACCCCTGGAAAGGCCCTTGGTGGATGGACATATTTGATCCTTACTATGGTAGTTCTTAACACTACAA 5280  
 C K A S G Y S F T D Y I I L W V R Q N P G K G L E W I G H I D P Y Y G S S N Y N  
 \_\_\_\_\_ hB7V3 Vh  
 TCTGAATTCAGGGCAGAGTGACAAATCACCGCCGACCAAGTCTTACCACCAAGCCCTACATGAGAGCTCTCCAGTCTGAGATCTGAGGACACTGCACTCTATTACTGTGGAAAGATCTTAAGAG 5400  
 L K F K G R V T I T A D Q S T T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C G R S K R  
 \_\_\_\_\_ hB7V3 Vh  
 GGACTACTTTGACTACTGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTTTCTCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCCCTCTCCAAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGC 5520  
 D Y F D Y W G Q G T T L T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A  
 \_\_\_\_\_ hB7V3 Vh  
 CCTGGCTGCCGTGCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGGCCCTGACCAGCGGGTGACACACTTCCCGGCTCTCTACAGTCTCTCAGGACTCTACTC 5640  
 L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S  
 \_\_\_\_\_ hg1  
 CCTCAGCAGCGTGGTGACCGTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAGTGAATACACAGCCCAACCAACCAAGCTGGACAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGA 5760  
 L S S V V T V P S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D  
 \_\_\_\_\_ hg1  
 CAAACTCACATGCCCGCCAGCACCTGAACCTCTGGGGGACCGTCACTCTTCTTCTTCCCGCCCAAAACCCCAAGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATG 5880  
 K T H T C P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C  
 \_\_\_\_\_ hg1  
 CGTGGTGGTGAGCGTGAGCCACGACCTGAGGTCAAGTTCAGTGTGAGTGGACGGGTGGAGTGCATATGCCAAGACAAAGCGGGAGGAGGAGTACAAACAGCACGACGTACCG 6000  
 V V V D V S H E D P E V K F E N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R  
 \_\_\_\_\_ hg1  
 TGTGGTCAGCGTCTCACCCTGTCACCGAGTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAGTGCAGAGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCGCCCATCGAGAAACCATCTCCAAGCCCAAGG 6120  
 V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G  
 \_\_\_\_\_ hg1  
 GCAGCCCGGAGAACCAAGGTGTACACCTGCCCGCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGTCCCTGCTGTCAAAGCTTCTATCCAGCGACATCGCGGTGGAGTG 6240  
 Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W  
 \_\_\_\_\_ hg1  
 GGAGAGCAATGGGCGAGGAGAACAACTACAGACCAACCCCTCCCGTGTGGACTCCGAGCGCTCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAA 6360  
 E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N  
 \_\_\_\_\_ hg1  
 CGTCTTCTCATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCACACCACTACACGCAAGAGCCCTCTCCCTCTCTCCGGGTAAATGA 6442  
 V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K .  
 \_\_\_\_\_ hg1

FIGURA 9C

Cadena ligera (Ck humano) (SEQ ID NO. 28)

MDMRVSAQLLGLLLWLSGARCDIQMTQSPSSLSASIGDRVTITCKASQD  
 INSYL~~SWFQ~~QKPGKAPKLLIYRANRLVDGVPSRFSGSGGTDYTLTISSLQ  
 PEDFAVYYCLQYDEFPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT  
 ASVVCLLN~~NFY~~PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSL  
 STLTLKADYEKHKVYACEVTHQQLSPVTKSFNRGEC

FIGURA 9D

**FIGURA 9E**

**(SEQ ID NO. 27)**

ATGGACATGAGGGTCTCTGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGG  
CTCTCAGGGGCCAGGTGTGACATCCAGATGACACAGTCTCCATCTTCC  
CTGTCTGCATCTATAGGAGACAGAGTCACTATCACTTGCAAGGCGAGT  
CAGGACATTAATAGCTATTTAAGCTGGTTCAGCAGAAACCAGGGAA  
AGCTCCTAAGCTGCTGATCTATCGTGCAAACAGATTGGTAGATGGGGT  
TCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTATACTCTCAC  
CATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTCGCAGTTTATTATTGTCTACA  
GTATGATGAGTTTCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAAT  
AAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGAT  
GAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC  
TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTC  
CAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGA  
CAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACT  
ACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTG  
AGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

[illegible]

FIGURA 9F

Cadena pesada  
de hB7V3V2-hG24 (SEQ ID NO. 13)

MGWSRIFLFLLSIIAGVHCQVQLQSGSELKKPGASVKISCKASGYSTDY  
IILWVRQNPQGKLEWIGHIDPYYGSSNYNLKFKGRVTITADQSTTTAYME  
LSSLRSEDTAVYYCGRSKRDFDYWGQTTLTVSSASTKGPSVFPLAPC  
SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL  
YSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECP  
APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV  
DGVFVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN  
KGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY  
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG  
NVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLGLGK

FIGURA 10A

**FIGURA 10B**

(SEQ ID NO. 12) (secuencia genómica de hG2G4)

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCTCGAG  
GTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCACTGAAGATGTCTGC  
AAGGCTTCTGGTTATTCATTCACTGACTACATCATACTCTGGGTGAAGCAGAACCATGGAAAG  
AGCCTTGAGTGGATTGGACATATTGATCCTTACTATGGTAGTTCTAACTACAATCTGAAATTCA  
AGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAATCTTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAACAGT  
CTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGGAAGATCTAAGAGGGACTACTTTGACTAC  
TGGGGCCAAGGCCACCACTCTCACAGTTTCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCCGTCTTCCCC  
CTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGA  
CTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACAC  
CTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC  
AGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT  
GGACAAGACAGTTGGTGAGAGGCCAGCTCAGGGAGGGAGGGTGTCTGCTGGAAGCCAGGCTC  
AGCCCTCCTGCCTGGACGCACCCCGGCTGTGCAGCCCCAGCCCAGGGCAGCAAGGCAGGCCC  
CATCTGTCTCTCACC CGGAGGCCTCTGCCCCCCCCACTCATGCTCAGGGAGAGGGTCTTCTG  
GCTTTTCCACCAGGCTCCAGGCAGGCACAGGCTGGGTGCCCCCTACCCAGGCCCTTCACACA  
CAGGGGCAGGTGCTTGGCTCAGACCTGCCAAAAGCCATATCCGGGAGGACCTGCCCCCTGAC  
CTAAGCCGACCCCAAAAGGCCAAACTGTCCACTCCTCAGCTCGGACACCTTCTCTCTCTCCAG  
ATCCGAGTAACCTCCCAATCTTCTCTCTGCAGAGCGCAAATGTTGTGTGAGTGCCCAACCGTGC  
CCAGGTAAGCCAGCCCAGGCCTCGCCCTCCAGCTCAAGGCGGGACAGGTGCCCTAGAGTAGC  
CTGCATCCAGGGACAGGCCCCAGCTGGGTGCTGACACGTCCACCTCCATCTCTTCTCAGCAC  
CACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCTCATGATCT  
CCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAG  
TTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCA  
GTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAACGG  
CAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCT  
CCAAAGCCAAAGGTGGGACCCACGGGGTGGGAGGGCCACATGGACAGAGGTGAGCTCGGCC  
ACCTCTGCCCTGGGAGTGACCGCTGTGCCAACCTCTGTCCCTACAGGGCAGCCCCGAGAGCC  
ACAGGTGTACACCTGCCCCATCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCT  
GCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCG  
GAGAACAACCTACAAGACACGCCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGC  
AGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA  
TGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAATGATGA

Una representación esquemática de la cadena pesada del anticuerpo hB7V3V2-hG2G4 (parte 1).

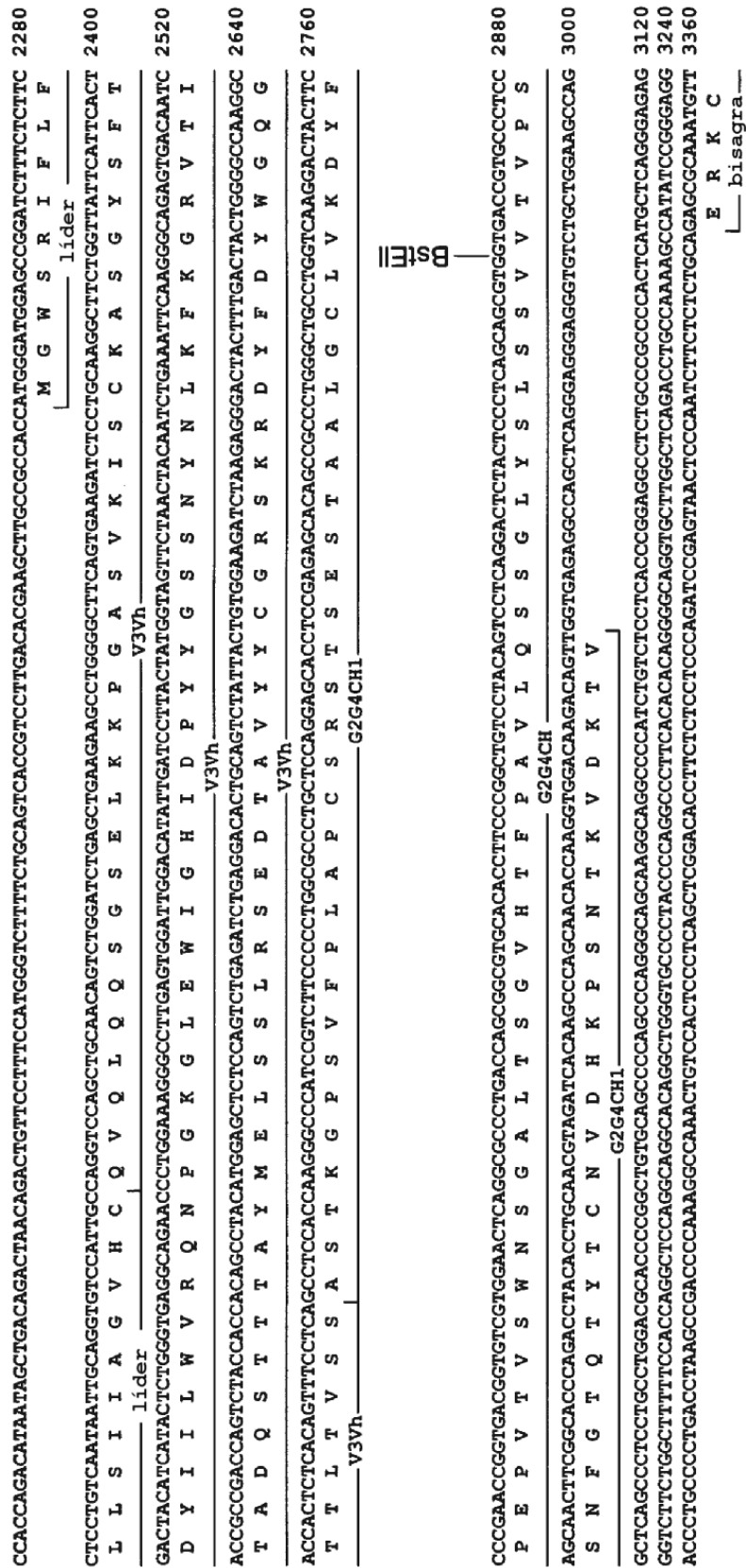


FIGURA 10C (parte 1)

Una representación esquemática de la cadena pesada del anticuerpo hB7V3V2-hG2G4 (parte 2).

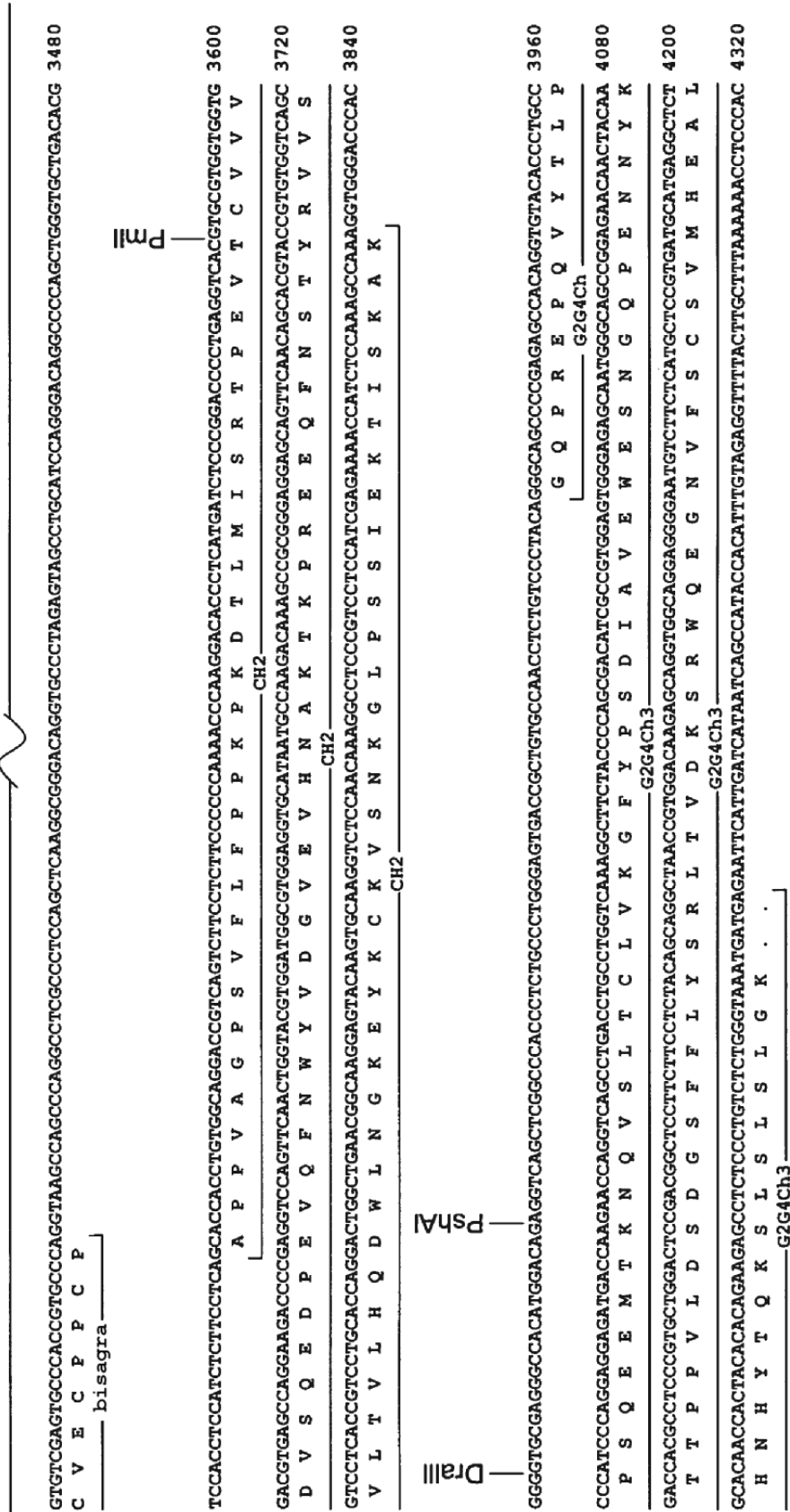


FIGURA 10C (parte 2)

**FIGURA 10D**

Cadena ligera (Ck humano) (SEQ ID NO. 28)

MDMRVSAOLLGLLLLWLSGARCDIQMTQSPSSLSASIGDRVTTTCKASQD  
INSYLSWFQQKPGKAPKLLIYRANRLVDGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQ  
PEDFAVYYCLQYDEFPYTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT  
ASVVCLLNFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLS  
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**FIGURA 10E**

(SEQ ID NO. 27)

ATGGACATGAGGGTCTCTGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGG  
CTCTCAGGGGCCAGGTGTGACATCCAGATGACACAGTCTCCATCTTCC  
CTGTCTGCATCTATAGGAGACAGAGTCACTATCACTTGCAAGGCGAGT  
CAGGACATTAATAGCTATTAAAGCTGGTTCCAGCAGAAACCAGGGAA  
AGCTCCTAAGCTGCTGATCTATCGTGCAAACAGATTGGTAGATGGGGT  
TCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTATACTCTCAC  
CATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTCGCAGTTTATTATTGTCTACA  
GTATGATGAGTTTCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAAT  
AAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGAT  
GAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC  
TTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTC  
CAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACACAGAGCAGGACAGCAAGGA  
CAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACT  
ACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTG  
AGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

[illegible]

FIGURA 10F

Cadena pesada  
de chC2aB7-hG2G4 (SEQ ID NO. 15)

MGWSCIILFLVATATGVHSLEVLQQSGPELVKPGASLKMCKASGYSFT  
DYIILWVKQNHGKSLEWIGHIDPYYGSSNYNLKFKGKATLTVDKSSSTAY  
MQLNSLTSEDSAVYYCGRSKRDIYFDYWGQTTLTVSSASTKGPSVFPLA  
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS  
GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECP  
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN  
WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
KVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR  
WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

FIGURA 11A

**FIGURA 11B**

(SEQ ID NO. 14) (secuencia genómica de hG2G4)

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCTCGAG  
GTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCACTGAAGATGTCTCTGC  
AAGGCTTCTGGTTATTCAITCACTGACTACATCATACTCTGGGTGAAGCAGAACCATGGAAAG  
AGCCTTGAGTGGATTGGACATATTGATCCTTACTATGGTAGTTCTAACTACAATCTGAAAATTCA  
AGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAATCTTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAACAGT  
CTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGGAAGATCTAAGAGGGACTACTTTGACTAC  
TGGGGCCAAGGCCACCACTCTCACAGTTTCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCCGTCTTCCCC  
CTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGA  
CTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACAC  
CTTCCCGGTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC  
AGCAACTTGGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT  
GGACAAGACAGTTGGTGAGAGGCCAGCTCAGGGAGGGAGGGTGTCTGCTGGAAGCCAGGCTC  
AGCCCTCCTGCCTGGACGCAACCCGGCTGTGCAGCCCCAGCCCAGGGCAGCAAGGCAGGCCC  
CATCTGTCTCCTCAGCCGGAGGCCTCTGCCCGCCCCACTCATGCTCAGGGAGAGGGTCTTCTG  
GCTTTTTCCACCAGGCTCCAGGCAGGCACAGGCTGGGTGCCCTACCCCAGGCCCTTCACACA  
CAGGGGACAGGTGCTTGGCTCAGACCTGCCAAAAGCCATATCCGGGAGGACCTGCCCTGAC  
CTAAGCCGACCCCAAAGGCCAAACTGTCCACTCCTCAGCTCGGACACCTTCTCTCTCTCCAG  
ATCCGAGTAACTCCCAATCTTCTCTCTGCAGAGCGCAAATGTTGTGTGAGTGCCACCGTGC  
CCAGGTAAGCCAGCCAGGCCTCGCCCTCCAGCTCAAGGCGGGACAGGTGCCCTAGAGTAGC  
CTGCATCCAGGGACAGGCCCCAGCTGGGTGCTGACACGTCCACCTCCATCTCTTCTCTCAGCAC  
CACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCTCATGATCT  
CCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAG  
TTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAAGCCGCGGGAGGAGCA  
GTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCAGCGTCCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGG  
CAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCT  
CCAAAGCCAAAAGGTGGGACCCACGGGGTGGAGGGCCACATGGACAGAGGTCACTCGGCCC  
ACCCTCTGCCCTGGGAGTGACCGCTGTGCCAACCTCTGTCCCTACAGGGCAGCCCCGAGAGCC  
ACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAACCTGACCT  
GCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCG  
GAGAACAACCTACAAGACCAGCCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGC  
AGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA  
TGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAATGA

Una representación esquemática de la cadena pesada del anticuerpo chC2aB7-hG2G4 (aminoácidos 1-337) (parte 1).

|                                                                                                        |   |   |   |   |   |   |   |   |       |                                                 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|-------|-------------------------------------------------|
| GCTGACAGACTGTTCCTTTCCATGGGTCTTTTCTGCAGTCACCGTCCTTGACACAGGCGCGCCGCCACCATGGGATGGAGCTGTATCATCC            |   |   |   |   |   |   |   |   |       | 100                                             |
|                                                                                                        |   |   |   |   |   |   |   |   | Lider |                                                 |
|                                                                                                        |   |   |   |   |   |   |   |   | M     | G W S C I I                                     |
| TGTTGTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCTCGAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTGACTGAAGATGTC   |   |   |   |   |   |   |   |   |       | 200                                             |
|                                                                                                        |   |   |   |   |   |   |   |   |       | VH                                              |
| L                                                                                                      | F | L | V | A | T | A | T | G | V     | H S L E V Q L Q Q S G P E L V K P G A S L K M S |
| CTGCAAGGCTTCTGGTTATTCATTCAGTACTACATCATCTACTCTGGGTGAAGCAGAACCATGGAAGAGCCCTTGAGTGGATTGGACATATTGATCCCTTAC |   |   |   |   |   |   |   |   |       | 300                                             |
|                                                                                                        |   |   |   |   |   |   |   |   |       | VH                                              |
| C                                                                                                      | K | A | S | G | Y | S | F | T | D     | Y I I L W V K Q N H G K S L E W I G H I D P Y   |
| TATGGTAGTTCTAACTACAATCTGAAATTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAATCTCCAGCACAGCCCTACATGCAGCTCAACAGTCTGACAT   |   |   |   |   |   |   |   |   |       | 400                                             |
|                                                                                                        |   |   |   |   |   |   |   |   |       | VH                                              |
| Y                                                                                                      | G | S | S | N | Y | N | L | K | F     | K G K A T L T V D K S S S T A Y M Q L N S L T   |
| CTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGGAAGATCTAAGAGGGAGTACTTTGACTACTGGGGCCAAAGGCACCACTCTCACAGTTTCTCAGCCTCCACCAA   |   |   |   |   |   |   |   |   |       | 500                                             |
|                                                                                                        |   |   |   |   |   |   |   |   |       | VH                                              |
| S                                                                                                      | E | D | S | A | V | Y | C | G | R     | S K R D Y F D Y W G Q G T I L T V S S A S T K   |
|                                                                                                        |   |   |   |   |   |   |   |   |       | G2G4 CH1                                        |
| GGGCCCCATCCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGSGTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTG |   |   |   |   |   |   |   |   |       | 600                                             |
|                                                                                                        |   |   |   |   |   |   |   |   |       | G2G4 CH1                                        |
| G                                                                                                      | P | S | V | F | P | L | A | P | C     | S R S T S E S T A A L G C L V K D Y F P E P V   |
| ACGGTGTGTTGGAACCTCAGGCCCCCTGACCAGCCGGTGCACACCTTCCCGGGTGTCTACAGTCTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCG  |   |   |   |   |   |   |   |   |       | 700                                             |
|                                                                                                        |   |   |   |   |   |   |   |   |       | G2G4 CH1                                        |
| T                                                                                                      | V | S | W | N | S | G | A | L | T     | S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T   |

FIGURA 11C (parte 1)

Una representación esquemática de la cadena pesada del anticuerpo chC2aB7-hG2G4 (aminoácidos 1-337) (parte 2).

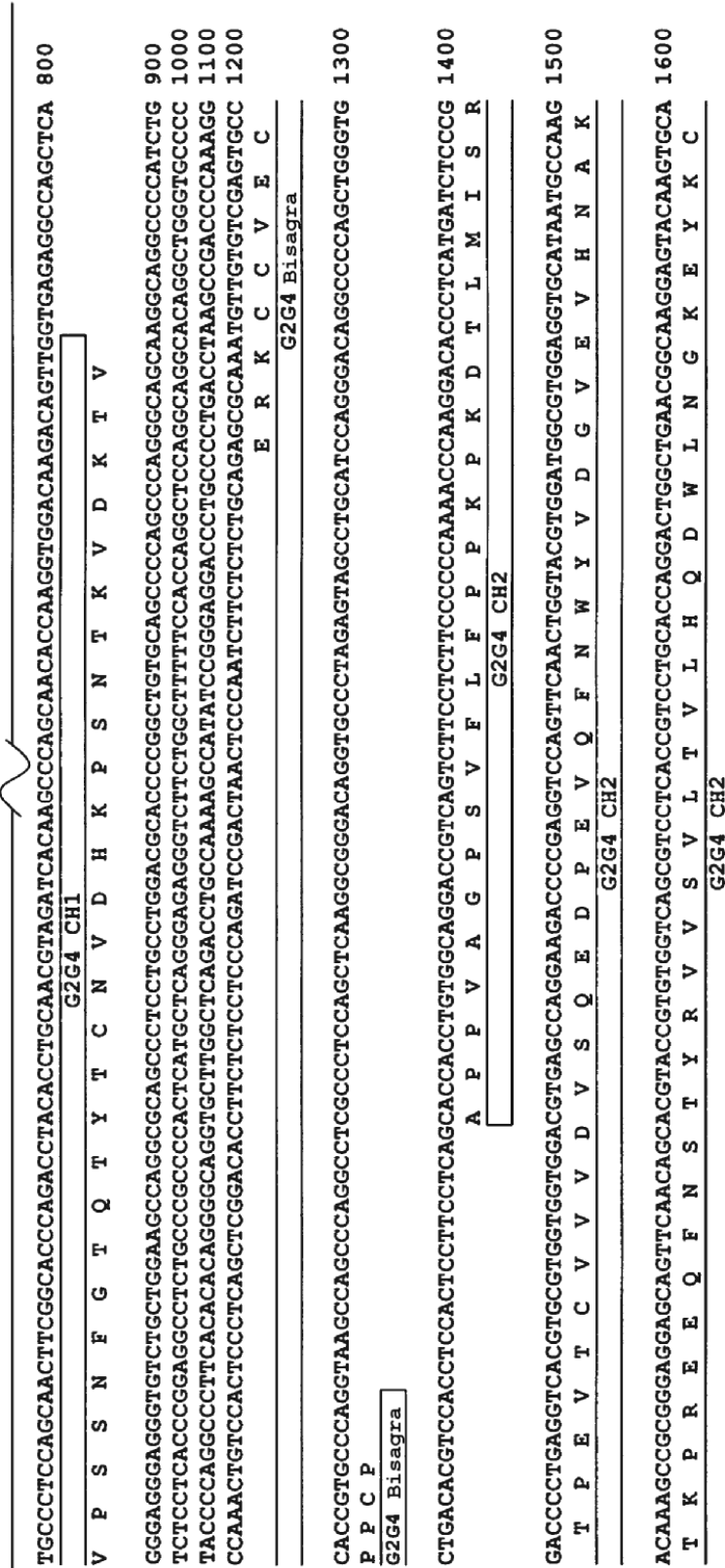


FIGURA 11C (parte 2)

**FIGURA 11D**

Cadena ligera (Ck humano) (SEQ ID NO. 24)

MGWSCILFLVATATGVHSRDIQMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINS  
YLSWFQQKPGKSPKTLIYRANRLVDGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLEYED  
MGIYYCLQYDEFPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV  
VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTL  
TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**FIGURA 11E**

(SEQ ID NO. 23)

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGT  
GTCCACTCTAGAGACATCCAGATGACACAGTCTCCATCTTCCATGTAT  
GCATCTCTAGGAGAGAGAGTCACTATCACTTGCAAGGCGAGTCAGGA  
CATTAAATAGCTATTTAAGCTGGTTCAGCAGAAACCAGGGAAATCTCC  
TAAGACCTGATCTATCGTGCAAACAGATTGGTAGATGGGGTTCCATC  
AAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGCAAGATTATTCTCTCACCATCAG  
CAGCCTGGAGTATGAAGATATGGGAATTTATTATTGTCTACAGTATGA  
TGAGTTTCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAAC  
GGACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCA  
GTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTAT  
CCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATC  
GGGTAAGTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCA  
CCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAG  
AAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC  
GCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAA

AAGCTTGCCGCCACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCTAGAGACATCCAGATGACACAGTCTCCAT 100  
 M G W S C I I L F L V A T A T Q V H S R D I Q M T Q S P  
 CTTCCATGTATGCATCTCTAGGAGAGAGAGTCACTATCACTTGCAAGGCGAGTCAAGGACATTAATAGCTATTTAAGCTGGTTCAGCAGAAACCCAGGAA 200  
 S S M Y A S L G E R V T I T C K A S O D I N S Y L S W F Q Q K P Q K  
 ATCTCCTAAGACCCTGATCTATCGTGCAACAGATTGGTAGATGGGGTTCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGGGCAAGATTATTCTCTCACCATC 300  
 S P K T L I Y R A N R L V D G V P P S R F S G S G Q Q Y S L T I  
 AGCAGCCTGGAGTATGAAGATATGGGAATTTATATTGTCTACAGTATGATGAGTTCCQATACACGTTCCGAGGGGGGAACAAGCTGGAATAAAACGGA 400  
 S S L E Y E D M G I Y Y C L Q Y D E F P Y T F G G G T K L E I K R  
 CTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTGTGCTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAG 500  
 T V A A P S V P I P P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R  
 AGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTCAAGAGCAGGACAGCAAGCAGCACCTACAGCCTC 600  
 E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L  
 AGCAGCACGCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAACAAGAGCT 700  
 S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S

TCAACAGGGGAGAGTGTTCAGCGCGCGCAATTCATTGA 738  
 F N R G E C S A A I H

FIGURA 11F

**FIGURA 12A**

**Cadena pesada  
de hB7V3V2-cG2G4 (SEQ ID NO. 13)**

**MGWSRIFLFLSLIAGVHCQVQLQQSGSELKKPGASVKISCKASGYSFTDY**  
**IILWVRQNPVGKLEWIGHIDPYYGSSNYNLKFKGRVTITADQSTTTAYME**  
**LSSLRSEDNAVYYCGRSKRDYFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPC**  
**SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL**  
**YSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTVERKCCVECPCP**  
**APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV**  
**DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN**  
**KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY**  
**PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG**  
**NVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLGLGK**

**FIGURA 12B**

(SEQ ID NO. 16) (ADNc de G2G4)

ATGGGATGGAGCCGGATCTTTCTCTTCCTCCTGTCAATAATTGCAGGTG  
 TCCATTGCCAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGATCTGAGCTGAAGAAGC  
 CTGGGGCTTCAGTGAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTATTCAATCAC  
 TGA CTACATCATACTCTGGGTGAGGCAGAACCCTGGAAAGGGCCTTGA  
 GTGGATTGGACATATTGATCCTTACTATGGTAGTTCTAACTACAATCTG  
 AAATTCAAGGGCAGAGTGACAATCAACGCCGACCAGTCTACCACCAC  
 AGCCTACATGGAGCTCTCCAGTCTGAGATCTGAGGACACTGCAGTCTA  
 TTA CTGTGGAAGATCTAAGAGGGACTACTTTGACTACTGGGGCCAAGG  
 CACCACTCTCACAGTTTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCCGTCTTC  
 CCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTG  
 GGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGG  
 AACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTTA  
 CAGTCTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC  
 AGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCC  
 AGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTGCA  
 GTGCCCACCGTGCCAGCACCACTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCT  
 CTTCCCCC AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA  
 GGTACAGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCC  
 AGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA  
 AAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGT  
 CCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGT  
 GCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCT  
 CCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCC  
 CCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCT  
 GGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA  
 ATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGAC  
 TCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTAACC GTGGACAAGAGC  
 AGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT  
 CTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAA  
 TGATG

CCACGACAGACATTAAGCTGACAGACTAAACAGACTGTTCTTCCATGGGTCCTTTCTGACAGTCCGTCCTTGACACGAAGCTTCCGCGCACGATGGGATGGAGCGCGGATCTTTCTCTCTTC 2288

\_\_\_\_\_ leader \_\_\_\_\_ M G W S R I F L F \_\_\_\_\_ lider \_\_\_\_\_

CTCTGTCTCAATAATTGACGGTGTCTCATTTGCCAGGTCCAGCTCCAGCTCTGATCTGAGCTCAAGAGACCTTGGGGCTTCAAGATCTCCTGCAAGCTTCTGGTTATTCAATTCACCT 2400

L L S I I A G V H C Q V Q L Q Q S G S E L K K P G A S V K I S C K A S G Y S F T

\_\_\_\_\_ V3 VH \_\_\_\_\_

GACTACATCATCTCTGGGTGAGCGCAGAACCTTGGAAAGGCGCTTGAGTGGATTGGACATATTGATCTTACTATGTAGTGTAGTTCTTAACATCAATCTGAAATTCAGAGGCGACAGTGACAATC 2520

D Y I I L W V R Q N P G K G L E W I G H I D P Y Y G S S N Y N L K F K G R V T I

\_\_\_\_\_ V3 VH \_\_\_\_\_

ACCGCGCACGAGCTPACCAACACAGCTACATGGAGCTCTCCAGTCTGAGATCTGAGACATCTGAGACATCTTACTGTGGAAGATCTAAGAGGAGACTACTTTGACTACTTGGGGCCCAAGGC 2640

T A D Q S T T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C G R S K R D Y F D Y W G Q G

\_\_\_\_\_ V3 VH \_\_\_\_\_

ACCATCTCAACATTTCTCAGCCTCCACCAAGGGGCCATCGCTCTCCCTGGCGCCTGCTCCAGGAGACACTCCGAGAGACAGCCGCCCTGGGGTCCCTGGTCAAGGACTACTTC 2760

T T L T V S S A S T K G P S V F P L A P C S R S T S E S T A A L G C L V K D Y F

\_\_\_\_\_ V3 VH \_\_\_\_\_ ADNC de G2G4 \_\_\_\_\_

CCGNAACGGTGACGGTGTCTGGTGAAGTCAAGCGCGCTGACAGCGGGGTGACACACTTCCGGCTGCTCTACAGTCTCCTCAGGACTCTCCTCAGGACTCTCCTCAGCAGCGGTGACCGTGGCGCTCC 2680

P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S

\_\_\_\_\_ ADNC de G2G4 \_\_\_\_\_

AGCAACTTCGGCACCCAGACTACACTGCAACGTAGATCAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAGACACTTGAGCGCAATGTGTCTCAGTGCCTCCAGTGCCTCCAGCAGCACCACT 3000

S N F G T Q T Y T C N V D H K P S N T K V D K T V E R K C C V E C P C P A P P

\_\_\_\_\_ ADNC de G2G4 \_\_\_\_\_

GTGGCAGGACCGTCACTCTCTCTTCCCTCCCAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACTGCTGGTGTGACCTGAGCCAGGAGAACCCCGAGGTCCAG 3120

V A G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S Q E D P E V Q

\_\_\_\_\_ ADNC de G2G4 \_\_\_\_\_

TTCAACTGTGACGTGGTGGAGGTGCATATGCAAGACAAAGCCGGGAGAGAGCTCAACAGCAGTACCGTGTGGTACCGTCTCAGCTCCGTCAGCAGGAGCTGGCTG 3240

F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q F N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L

\_\_\_\_\_ ADNC de G2G4 \_\_\_\_\_

AACGCAAGGAGTCAAGTCAAGTCTCCAAACAGGCTCCCGTCTCCATCGAGAAACCATCTCCAAAGCAAGGGGAGCCCGGAGAGCCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCC 3360

N G K E Y K C K V S N K G L P S S I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S

\_\_\_\_\_ ADNC de G2G4 \_\_\_\_\_

CAGGAGGAGATGACCAAGAACCGGTGACCTGACCTGCTGGTCAAGGCTTCTACCCAGGACATCTCCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCGAGCCCGGAGAGCAACTACAAGACCAG 3480

Q E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T

\_\_\_\_\_ ADNC de G2G4 \_\_\_\_\_

CCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCTCTCTCTCTACAGCAGGTAAACCGCTGGACAGGACGAGTGGCGAGGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCAAC 3600

P P V L D S D G S F F L Y S R L T V D K S R W Q E G N V F S C S V M H E A L H N

\_\_\_\_\_ ADNC de G2G4 \_\_\_\_\_

CACTACACAGAGACCTCTCCCTGTCTCTGGTGAATGATGAGAATTCATGATCATATCAGCCATACCACTTTGTAGAGTTTACTTGTCTTTAATAAACCTCCACACCTCC 3720

H Y T Q K S L S L S L G K \_\_\_\_\_ ADNC de G2G4 \_\_\_\_\_

FIGURA 12C

**FIGURA 12D**

Cadena ligera (Ck humano) (SEQ ID NO. 28)

MDMRVSAQLLGLLLWLSGARCDIQMTQSPSSLSASIGDRVTITCKASQD  
INSYLSWFQQKPGKAPKLLIYRANRLVDGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQ  
PEDFAVYYCLQYDEFPYTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT  
ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLS  
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**FIGURA 12E**

(SEQ ID NO. 27)

ATGGACATGAGGGTCTCTGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGG  
 CTCTCAGGGGCCAGGTGTGACATCCAGATGACACAGTCTCCATCTTCC  
 CTGTCTGCATCTATAGGAGACAGAGTCACTATCACTTGCAAGGCGAGT  
 CAGGACATTAATAGCTATTTAAGCTGGTTCCAGCAGAAACCAGGGAA  
 AGCTCCTAAGCTGCTGATCTATCGTGCAAACAGATTGGTAGATGGGGT  
 TCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTATACTCTCAC  
 CATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTCGCAGTTTATTATTGTCTACA  
 GTATGATGAGTTTCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAAT  
 AAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGAT  
 GAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC  
 TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTC  
 CAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGA  
 CAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACT  
 ACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTG  
 AGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

[illegible]

FIGURA 12F

Cadena pesada  
de ChC7-hG2G4 (secuencia genómica de hG2G4) (SEQ ID NO. 18)

MGWSCIIIFLVATATGVHSLEVLQQSQPELEKPGASVKISKASGYSTG  
 YNMNWWVKQSSGKSLEWIGNFDPYYGVITYNQFKGKATLTVDKSSSTAY  
 MQLKSLTSEDSAVYYCARTATALYTM DYWGQTSVTVSSASTKGPSVF  
 PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL  
 QSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNV D HKPSNTKVDKTV ERKCCVE  
 CPPCPGKPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP  
 EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG  
 KEYKCKVSNKGLPSSIEKTKISKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVS  
 LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTV  
 DKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLGLK

FIGURA 13A

**FIGURA 13B**  
**(SEQ ID NO. 17)**

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCTCGAG  
 GTCCAACTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGAGAAGCCTGGCGCTTCAGTGAAGATATCCTGC  
 AAGGCTTCTGGTTACTCATTCACTGGCTACAACATGAACTGGGTGAAGCAGAGCAGTGGAAA  
 GAGCCTTGAGTGGATTGGAAATTTTGATCCTTACTATGGTGTTATTACCTACAACCAGAAGTTC  
 AAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAAGAG  
 CCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAACGGCTACGGCTCTCTATACTAT  
 GGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCCGT  
 CTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGT  
 CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCG  
 TGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT  
 GCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCAAGCCAGCAACA  
 CCAAGGTGGACAAGACAGTTGGTGAGAGGCCAGCTCAGGGAGGGAGGGTGTCTGCTGGAAAGC  
 CAGGCTCAGCCCTCCTGCCTGGACGCACCCCGGCTGTGCAGCCCCAGCCCAGGGCAGCAAGG  
 CAGGCCCCATCTGTCTCCTCACCCGGAGGCCTCTGCCCGCCCCACTCATGCTCAGGGAGAGGG  
 TCTTCTGGCTTTTCCACCAGGCTCCAGGCAGGCACAGGCTGGGTGCCCTACCCCAGGCCCTT  
 CACACACAGGGGCAGGTGCTTGGCTCAGACCTGCCAAAAGCCATATCCGGGAGGACCCCTGCC  
 CCTGACCTAAGCCGACCCCAAAGGCCAACTGTCCACTCCCTCAGCTCGGACACCTTCTCTCC  
 TCCCAGATCCGAGTAACTCCCAATCTTCTCTCTGCAGAGCGCAAATGTTGTGTGAGTGCCCA  
 CCGTGCCAGGTAAGCCAGCCAGGCCTCGCCCTCCAGCTCAAGGCGGGACAGGTGCCCTAG  
 AGTAGCCTGCATCCAGGGACAGGCCCCAGCTGGGTGCTGACACGTCCACCTCCATCTCTTCT  
 CAGCACCACTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCCAAGGACACCCCTCA  
 TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAG  
 GTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGA  
 GGAGCAGTTCAAACAGCACGTACCGTGTGGTTCAGCGTCTCACCGTCTGCAOCCAGGACTGGCT  
 GAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAA  
 CCATCTCCAAAGCCAAAGGTGGGACCCACGGGGTGGAGGGCCACATGGACAGAGGTCAAGT  
 CGGCCACCCCTCTGCCCTGGGAGTGACCGCTGTGCCAACCTCTGTCCCTACAGGGCAGCCCCG  
 AGAGCCACAGGTGTACAACCTGCCCCCATCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGGTCAAGC  
 TGACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG  
 CAGCCGGAGAACAATAACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGTCTCCGACGGCTCTTCTTCTCTC  
 TACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGTCCGT  
 GATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAATG  
 A

**FIGURA 13C**

Cadena ligera (Ck humano) (SEQ ID NO. 30)

MGWSCILFLVATATGVHSREIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSS  
 SYLHWYQQKSGASPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSVEAE  
 DAATYYCQQYSGYPLTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS  
 VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSST  
 LTLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**FIGURA 13D**

(SEQ ID NO. 29)

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGT  
 GTCCACTCTAGAGAAATTGTGCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCT  
 GCATCTCCAGGGGAAAAGGTCACCATGACCTGCAGGGCCAGCTCAAG  
 TGTAAGTTCCAGTTACTTGCACTGGTACCAGCAGAAGTCAGGTGCCTC  
 CCCCAACTCTGGATTTATAGCACATCCAACTTGGCTTCTGGAGTCCCT  
 GCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATCA  
 GCAGTGTGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAGTACA  
 GTGGTTACCCACTCACGTTCTGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAAC  
 GGACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCCGATGAGC  
 AGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTA  
 TCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT  
 CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGC  
 ACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA  
 GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCT  
 CGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAA

**FIGURA 14A**

**Cadena pesada  
de D1B5-hG1 (SEQ ID NO. 20)**

**MGWSCILFLVATATGVHSLEVQLQQPGAELVRSGASVKLSCKASGFNIK  
DYYIHWVKQRPEQGLEWIGWIDPEIGATKYVPKFQ GKATMTTDTSSNTA  
YLQLSSLTSED TAVYYCNALYGN YDRYYAMDYWGQGTSVTVSSASTKG  
PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF  
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS  
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS  
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD  
WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT  
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY  
SKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK**

**FIGURA 14B**

(SEQ ID NO. 19) (secuencia genómica de región constante de hG1)

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCTCGAG  
 GTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCAGAGCTTGTGAGGTCAGGGGCGCTCAGTCAAGTTGTCTGC  
 AAAGCTTCTGGCTTCAACATTAAGACTACTATATACACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGAACA  
 GGGCCTGGAGTGGATTGGATGGATTGATCCTGAGATTGGTGCTACTAAATATGTCCCGAAGTT  
 CCAGGGCAAGGCCACTATGACTACAGACACATCCTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCAGCA  
 GCCTGACATCTGAGGACACTGCGTCTATTACTGTAATGCGCTCTATGGTAACTACGACCGTT  
 ACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGG  
 GCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCGGCCCTGG  
 GCTGCGTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGAACTCAGGCGCCCTGA  
 CCAGCGGCGTGCACAACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCG  
 TGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGC  
 CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGGTGAGAGGCCAGCACAGGGAGGGAGGGTGTCT  
 TGCTGGAAGCCAGGCTCAGCGCTCCTGCCTGGACGCATCCCGGCTATGCAGTCCCAGTCCAGG  
 GCAGCAAGGCAGGCCCCGTCTGCCTCTTACCCGGAGGCCTCTGCCCGCCCCACTCATGCTCA  
 GGGAGAGGGTCTTCTGGCTTTTCCCCAGGCTCTGGGCAGGCACAGGCTAGGTGCCCTAACC  
 CAGGCCCTGCACACAAAGGGGCAGGTGCTGGGCTCAGACCTGCCAAGAGCCATATCCGGGAG  
 GACCTGCCCTGACCTAAGCCCACCCAAAGGCCAAACTCTCCACTCCCTCAGCTCGGACAC  
 CTTCTCTCCTCCAGATTCCAGTAACTCCCAATCTTCTCTCTGCAGAGCCCAATCTTGTGACA  
 AAATCACACATGCCAACCGTGCCAGGTAAGCCAGGCCAGGCCTCGCCCTCCAGCTCAAGGC  
 GGGACAGGTGCCTAGAGTAGCCTGCATCCAGGGACAGGCCCCAGCGGGTGTGACACGTC  
 CACCTCCATCTTCTCCTCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCA  
 AAACCCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTG  
 AGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGC  
 CAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACC  
 TCCTGCAACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC  
 CCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGTGGGACCGTGGGGTCCGAGGGCC  
 ACATGGACAGAGGCCGGCTCGGCCACCCCTCTGCCCTGAGAGTGACCGCTGTACCAACCTCTG  
 TCCCTACAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATG  
 ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTG  
 GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTCTGGACTC  
 CGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGA  
 ACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCT  
 CCCTGTCCCCGGGTAAATGA

[illegible]

FIGURA 14C (parte 1)

GGAGCAGTACAACACAGCACGTTACCGTGTGGTTCAGCGTCTCACCGTCTCGACCCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTCTCCAACAAGCCCTCCACAGCCCCCATCGA 4560  
E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E hg1 CH3  
GAAACCATCTCCAAGCCAAAGTTGGGACCCCTGGGGTTCGAGGGCCACATGGACAGAGCGCGGCTCGGCCACCCTGTGCCCTGAGAGTGACCGCTGTACCAACCTCTGTCTCCCTACAG 4680  
K T I S K A K hg1CH2  
GGACCCCCCGAGAACACACAGGTGTACACCCCTGGCCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTCAAGCTGACCTGCCTGGTCAAGGCTTCTATCCACGCGACATCGCCCGTGGAGT 4800  
G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E hg1 CH3  
GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGGAGAACAACTACNAGACCAACGCCCTCCCGTCTGGACTCCGACGGCTCTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCCGTGGACAAGACGACGAGTGGCAGCAGGGGA 4920  
W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G hg1 CH3  
ACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTGTGCACAACCACTACACGCAGAGAGCCCTCTCCCTGTCCCGGGTAAATGAGTCGACGGCCAGAAATTCATTGATCATATCATCAGCC 5038  
N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K . hg1 CH3

FIGURA 14C (parte 2)

Cadena ligera (Ck humano) (SEQ ID NO. 32)

ES 2 586 825 T3

MGWSCIIFLVATATGVHSRDIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNV  
TAVAWYQQKPGQSPKALIYLA<sup>1</sup>SNRHTGVPDRFTGSGGTDFTLTISNVQS  
EDLADYFC<sup>2</sup>LQHWNYPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT  
ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS<sup>3</sup>TSYLS  
NTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

FIGURA 14D

**FIGURA 14E**

(SEQ ID NO. 31)

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGT  
GTCCACTCTAGAGACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCC  
ACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGAA  
TGTTTCGTA CTGCTGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCAGTCTCC  
TAAAGCACTGATTTACTTGGCATCCAACCGGCACACTGGAGTCCCTGA  
TCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATTAG  
CAATGTGCAATCTGAAGACCTGGCAGATTATTTCTGTCTGCAACATTG  
GAATTATCCTCTCACGTTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAACG  
GACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAG  
TTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATC  
CCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCG  
GGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC  
CTACAGCCTCAGCAACACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGA  
AACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGC  
CCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAA

Una representación esquemática de la cadena ligera del anticuerpo D1B5-hG1.

```

AAGCTTCCCGCCACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCTAGAGACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCTATGTCCACATCAGTA 120
      M G W S C I I L F L V A T A T G V H S R D I V M T Q S Q K F M S T S V
      _____ lider _____ d1B5Vk
GGAGCAGGGTCAGCATCACCTGCNAGGCCAGTCAGATGTTCTGCTACTGCTGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCAGTCTCCTAAAGCACTGATTACTTGGCATCCAACCGGCAC 240
      G D R V S I T C K A S Q N V R T A V A W Y Q Q K P G Q S P K A L I Y L A S N R H
      _____ d1B5Vk
ACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGCAGTGGATCTGGACAGATTTCACCTCTCACCAATTAGCAATGTGCAATCTGAAGACCTGGCAGATTATTTCTGTGCAACATTGGAATTATCCT 360
      T G V P D R F T G S G S G T D F T L T I S N V Q S E D L A D Y F C L Q H W N Y P
      _____ d1B5Vk
CTCAGTTCGGTGTGCTATCCCGAGAGAGCCAAAGTACAGTGGAGCTGAACCGGACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCACTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAATCTGTTGTGTCCTG 480
      L T F G A G T K L E L K R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L
      _____ d1B5Vk _____ hCk
CTGAATAACTTCTATCCCGAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGATAACGGCCCTCCCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTCAACAGCAGCAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTC 600
      L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L
      _____ hCk
AGCAACACCCCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGGCTGCGAAGTCAACCATCAGGGCCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAA 720
      S N T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C .
      _____ hCk

```

FIGURA 14F

**FIGURA 15A**

**Cadena pesada**

**de G2G4 63L1D (SEQ ID NO. 22)**

**MGWSCILFLVATATGVHSQMLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFS  
NYATSWVRQAPGQGLEWLGGIIPVFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAY  
MELNSLTFFDDTAVYYCARGGGGWGGRNYYYYYYMDVWGKGTITVTVSS  
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS  
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV~~DK~~PSNTKVDK  
TVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD  
VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ  
DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM  
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL  
YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH~~EA~~LHNHYTQKSLSL~~SL~~LGK**

**FIGURA 15B**

(SEQ ID NO. 21) (secuencia genómica de hG2G4)

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCAGATG  
 CAGCTGGTGCACTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAA  
 GGCCTCTGGAGGCACCTTCAGCAACTATGCTACCAAGTTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAG  
 GTCTTGAGTGGCTGGGAGGGATCATCCCCGTCTTCGGTACTGCAAACTACGCACAGAAGTTTC  
 AGGGCAGAGTCAACATTACCGCGGACGAGTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGTTGAATAGT  
 CTGACATTTGACGACACGGCCGTCTATTACTGTGCGAGAGGGGGTGGGGGATGGGGAGGCCG  
 GAACTACTACTACTACTACTACATGGACGTCTGGGGCAAAGGGACCACTGTACCCGTCTCCTC  
 AGCCTCCACCAAGGGGCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACTCCGAGAG  
 CACAGCCGCCCTGGGTGCTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGAA  
 CTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTACAGTCTCAGGACTCTA  
 CTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAA  
 CGTAGATCAAAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGGTGAGAGGCCAGCTCAGG  
 GAGGGAGGGTGTCTGTGGAAGCCAGGCTCAGCCCTCTGCTGCGACGCCCGGCTGTGC  
 AGCCCCAGCCAGGGCAGCAAGGCAGGCCCATCTGTCTCTCTCAACCGGAGGCTCTGCCCGC  
 CCCACTCATGCTCAGGGAGAGGGTCTTCTGGCTTTTCCACCAGGCTCCAGGCAGGCACAGGC  
 TGGGTGCCCCCTACCCAGGCCCTTCACACACAGGGGCAGGTGCTTGGCTCAGACCTGCCAAAA  
 GCCATATCCGGGAGGACCCCTGCCCTGACCTAAGCCGACCCCAAGGCCAACTGTCCACTCC  
 CTCAGCTCGGACACCTTCTCTCTCTCCAGATCCGAGTAACCTOCCAATCTTCTCTCTGCAGAGCG  
 CAAATGTTGTGTGCGAGTGCCACCGTGCCAGGTAAGCCAGCCAGGCCTCGCCCTCCAGCTC  
 AAGGCGGGACAGGTGCCCTAGAGTAGCCTGCATCCAGGGACAGGCCCCAGCTGGGTGCTGAC  
 ACGTCCACCTCCATCTCTCTCAGCACCACTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCC  
 CAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACCGTGCGTGGTGGTGAC  
 GTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAA  
 TGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCA  
 CCGTCTGCACCAAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGC  
 CTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGTGGGACCCACGGGGTGGCAGG  
 GCCACATGGACAGAGGTGAGCTCGGCCACCCCTCTGCCCTGGGAGTGACCGCTGTGCCAACCT  
 CTGTCCCTACAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACCCCTGCCCCCATCCAGGAGGAG  
 ATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCC  
 GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGA  
 CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGG  
 GGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCC  
 TCTCCCTGTCTCTGGGTAAATGA

**FIGURA 15C**

Cadena ligera (CL humano) (SEQ ID NO. 34)

MGWSCILFLVATATGVHSSYVLTQPPSESVAPGQTARISCGGSNIGSYGV  
 HWYQQKAGQAPVLVVHDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISSVEAGDE  
 ADYYCQVWDNSAVIFGGGTKLTVLSQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKA  
**TLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYL**  
**SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS**

**FIGURA 15D**

(SEQ ID NO. 33)

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGT  
 GTCCACTCTTCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGAGTCAGTGGCC  
 CCAGGACAGACGGCCAGGATTTCTGTGGGGGGAGCAACATTGGAAG  
 TTACGGTGTGCACTGGTACCAGCAGAAGGCAGGACAGGCCCTGTGCT  
 GGTCTGTCATGATGATTCCGACCGGCCCTCAGGGATTCTGTAGCGATT  
 CTCTGGCTCCAATTCTGGGAACACGGCCACCCTGACCATCAGCAGTGT  
 CGAAGCCGCGCATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGTGTGGGATAATA  
 GTGCTGTGATATTCGGCGGAGGGACCAAACTAACCGTCCTAAGTCAGC  
 CCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCT  
 TCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCC  
 GGGAGCTGTGACAGTGGCTTGAAAAGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGG  
 CGGGAGTGGAGACCACACACCCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTAC  
 GCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAGTCCCA  
 CAGAAGCTACAGCTGCCAGGTACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGA  
 AGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTTCATAA

**FIGURA 16**

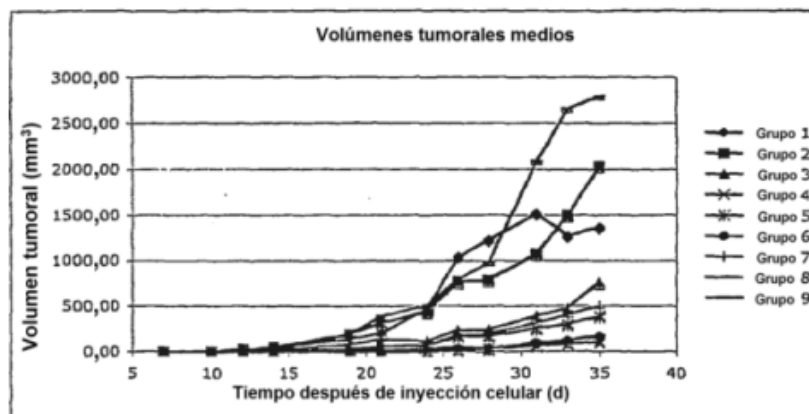
5'-GACAAGCTTGCAAGGATGGAGAGGCTGGTGA-3' (SEQ ID NO: 35)

**FIGURA 17**

5'-GACGGATCCGCCCTTTTCCTCCTGCTTTTCTC-3' (SEQ ID NO: 36)

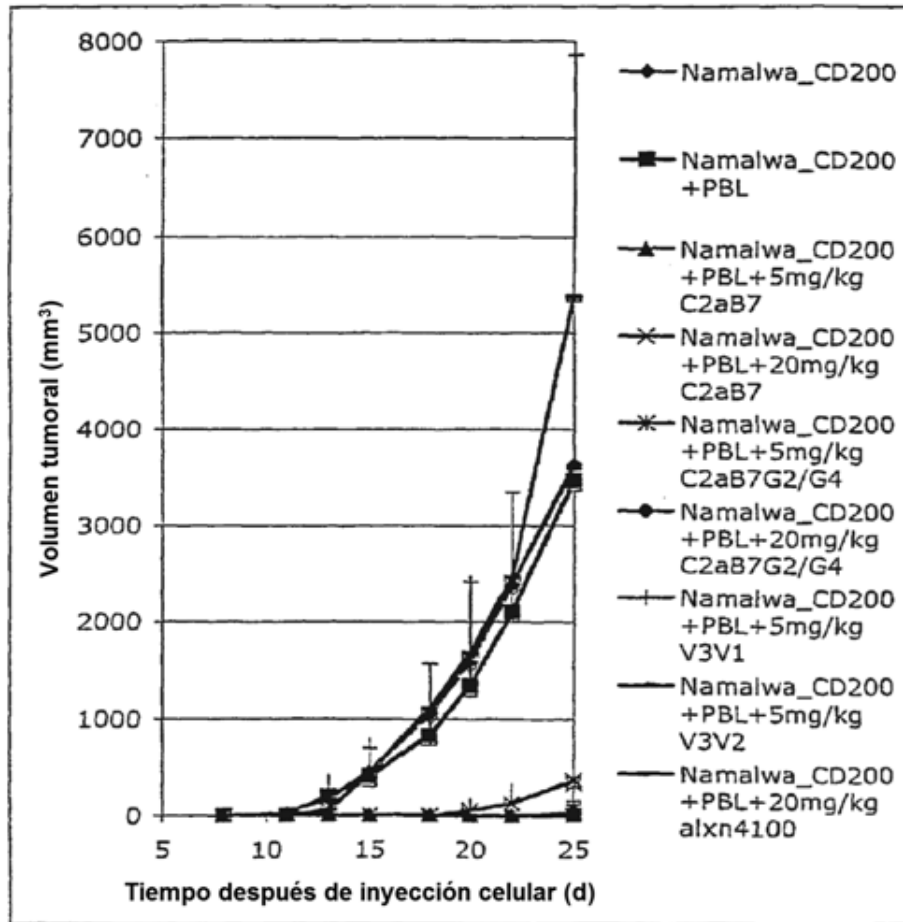
**FIGURA 18**

Eficacia de los anticuerpos anti CD200 (C2aB7) en el modelo de RAJI\_CD200/PBL



**FIGURA 19**

Comparación de los volúmenes tumorales medios en animales tratados con C2aB7-G1 con respecto a C2aB7-G2G4 en el modelo de Namalwa\_CD200.



**FIGURA 20**

Análisis de FACS de expresión de CD200 en células B-CLL en comparación con linfocitos B normales.

| muestra de CLL |                          | Dador sano               |                              |
|----------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|
| ID del Dador   | B-CLL<br>CD200<br>(GMFI) | B CD200 Normal<br>(GMFI) | Proporción (CLL/ B normal)   |
| RC011731       | 93                       | 58                       | 1,6                          |
| RF020934       | 659                      | 185                      | 3,6                          |
| JA073031       | 334                      | 64                       | 5,2                          |
| GR011846       | 156                      | 64                       | 2,4                          |
| BB101735       | 420                      | 95                       | 4,4                          |
| DM6988172      | 290                      | 97                       | 2,9                          |
| MR8074020      | 403                      | 97                       | 4,2                          |
| CB8267677      | 300                      | 97                       | 3,1                          |
| GB1325248      | 178                      | 77(7)                    | 2,3                          |
| VN7029373      | 154                      | 77(7)                    | 2,0                          |
| DG8942820      | 146                      | 77(7)                    | 1,9                          |
| MM8451869      | 237                      | 77(7)                    | 3,1                          |
| JR4539931      | 215                      | 77(7)                    | 2,8                          |
| HS6787771      | 305                      | 77(7)                    | 4,0                          |
| VB040439       | 123                      | 41                       | 3,0                          |
|                |                          |                          | MEDIA = 3,1<br>DESVTÍP = 1,0 |

**FIGURA 21**

| Tipo de tumor  | Línea celular | Tinción de CD200 |
|----------------|---------------|------------------|
| Melanoma       | SK-MEL2       | -                |
|                | SK-MEL28      | ++               |
|                | SK-MEL1       | +                |
|                | SK-MEL5       | +/-              |
|                | SK-MEL24      | +++              |
| Ovario         | OVCAR3        | ++               |
|                | SKOV3         | +/-              |
| Renal          | CAKI-1        | +                |
|                | ACHN          | -                |
|                | SN12C         | +                |
| Neuroblastoma  | IMR-32        | +++              |
|                | SK-N-SH       | ++               |
| Cáncer de mama | MDA-MB-435    | +/-              |
|                | MCF7          | -                |
|                | MDA-MB-231    | -                |

# RTQ-PCR DE MUESTRAS DE CÁNCER DE OVARIO PRIMARIO

## RT-QPCR: CD200 EN MUESTRAS DE CÁNCER DE OVARIO

| NÚMERO | MUESTRA                              | norm/n.º 51 | dt/n.º 51 |
|--------|--------------------------------------|-------------|-----------|
| 51     | PBL                                  | 1,00        | 0,03      |
| 124    | ovario normal                        | 5,82        | 0,16      |
| 125    | ovario normal                        | 19,45       | 1,33      |
| 127    | ov. adenocarc, seroso                | 10,93       | 0,47      |
| 128    | ov. adenocarc, seroso met            | 10,08       | 0,60      |
| 134    | ov. adenocarc, seroso met            | 21,24       | 0,69      |
| 129    | ov. adenocarc, papil. seroso         | 13,33       | 1,26      |
| 130    | ov. adenocarc, papil. seroso         | 8,71        | 0,42      |
| 126    | ov. adenocarc, endometriode          | 11,02       | 0,54      |
| 131    | ov. adenocarc, endometriode          | 1,38        | 0,20      |
| 135    | ov. adenocarc, endometriode          | 2,42        | 0,02      |
| 132    | ov. adenocarc, mucinoso              | 1,61        | 0,00      |
| 133    | ov. adenocarc, mucinoso              | 2,46        | 0,23      |
| 136    | ov. adenocarc, células transparentes | 6,51        | 1,14      |
| 137    | ov. adenocarc, células transparentes | 0,70        | 0,04      |

FIGURA 22 (parte 1)

**RTQ-PCR DE MUESTRAS DE CÁNCER DE OVARIO PRIMARIO  
EXPRESIÓN DE CD200 EN ADENOCARCINOMA DE OVARIO**

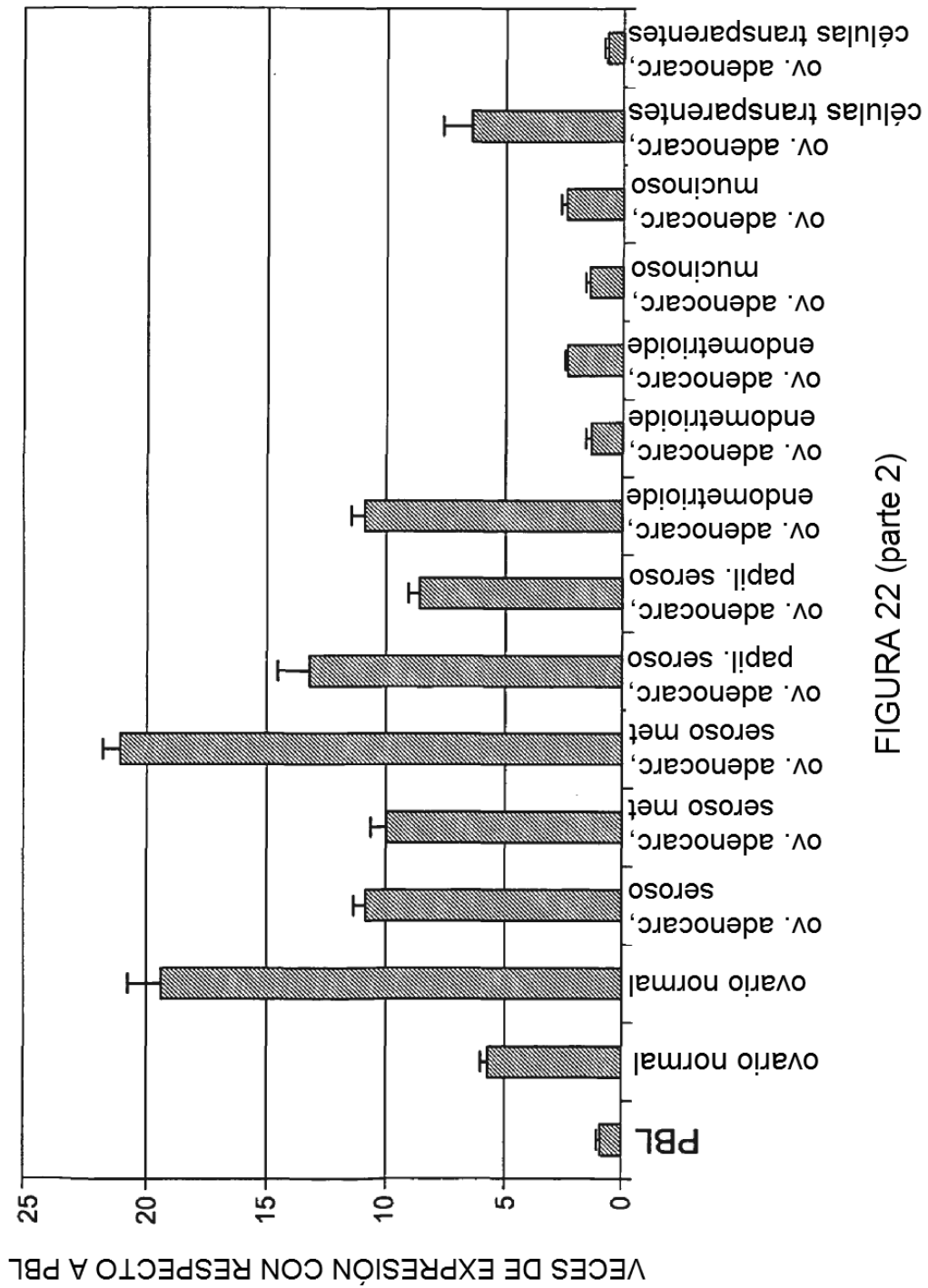


FIGURA 22 (parte 2)

RT-QPCR: CD200 en muestras de melanoma

| Número    | Muestra                       | norm/n.º | dt/n.º 51 |
|-----------|-------------------------------|----------|-----------|
| 51        | PBL                           | 1,00     | 0,28      |
| 139       | yeyuno normal -1              | 2,60     | 0,15      |
| 138       | yeyuno met -1                 | 8,39     | 0,24      |
| 147       | yeyuno normal -2              | 1,37     | 0,81      |
| 146       | yeyuno met -2                 | 14,46    | 3,38      |
| 143       | intestino delgado normal -1   | 3,57     | 1,21      |
| 142       | intestino delgado met -1      | 4,61     | 0,55      |
| 141       | ganglio linfático normal -1   | 8,52     | 1,00      |
| 140       | ganglio linfático met -1      | 6,22     | 0,53      |
| 151       | ganglio linfático normal -2   | 4,80     | 1,40      |
| 150       | ganglio linfático met -2      | 12,94    | 0,51      |
| 155       | ganglio linfático met -3      | 0,69     | 0,21      |
| 156       | ganglio linfático met -4      | 2,72     | 1,72      |
| 145       | pulmón normal -1              | 14,87    | 1,14      |
| 144       | pulmón met -1                 | 8,93     | 0,83      |
| 149       | pulmón normal -2              | 4,25     | 0,64      |
| 148       | pulmón met -2                 | 3,65     | 1,04      |
| 111       | piel normal -1                | 1,55     | 0,25      |
| 152       | melanoma metastásico, piel -2 | 0,05     | 0,06      |
| 158       | melanoma metastásico, piel -2 | 2,22     | 0,61      |
| 159       | melanoma normal -1            | 101,49   | 1,69      |
| 159       | melanoma normal -2            | 22,92    | 3,20      |
| 153       | maligno, melanoma, pulmón met | 18S bajo |           |
| 154       | maligno, melanoma, LN met     | 18S bajo |           |
| 157       | maligno, melanoma, LN met     | 18S bajo |           |
| 160       | maligno, melanoma, piel       | 18S bajo |           |
| 160-No RT | maligno, melanoma, piel       | 0,00     | 0,00      |

valores de la placa 9/10/04

FIGURA 23 (parte 1)

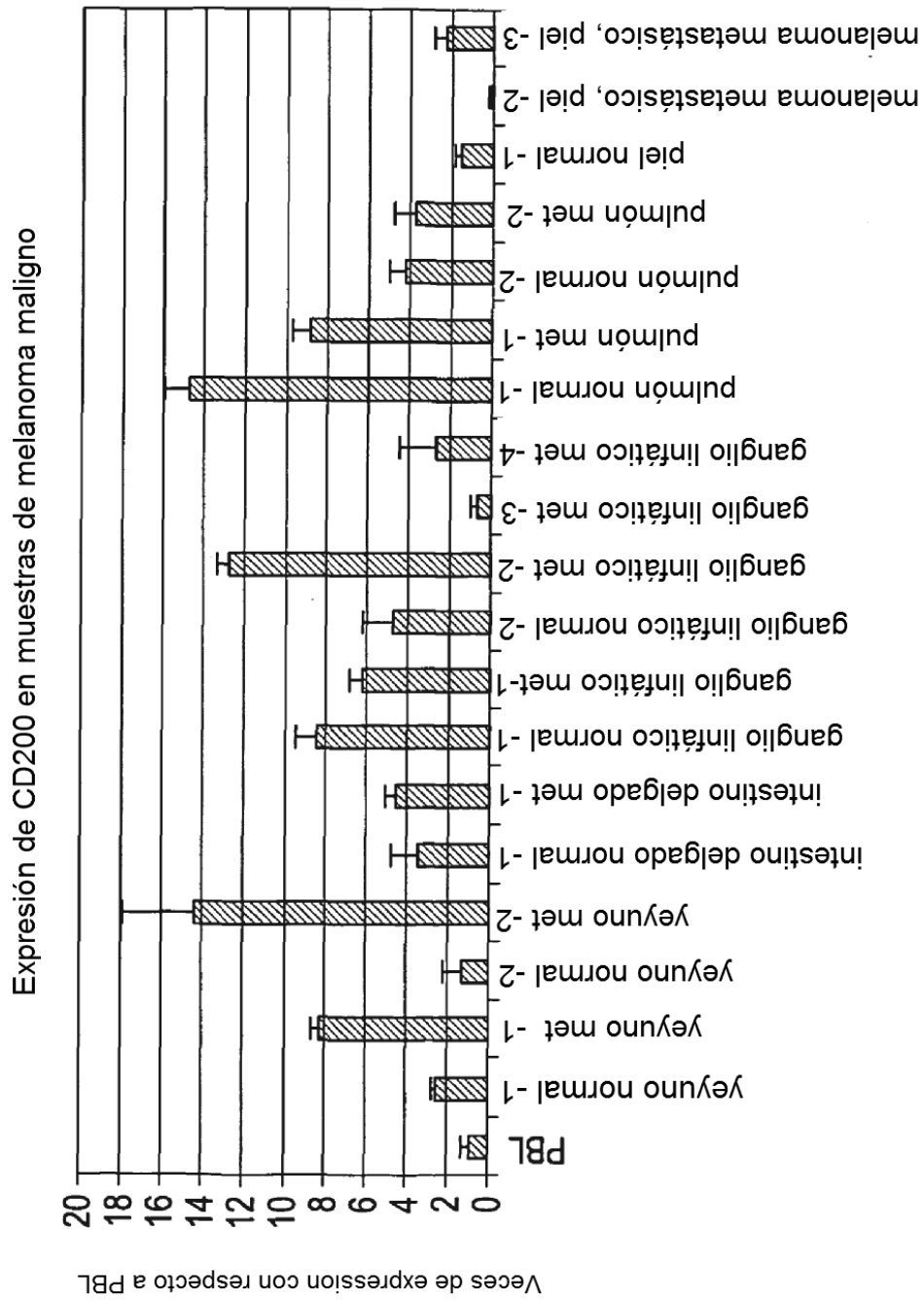
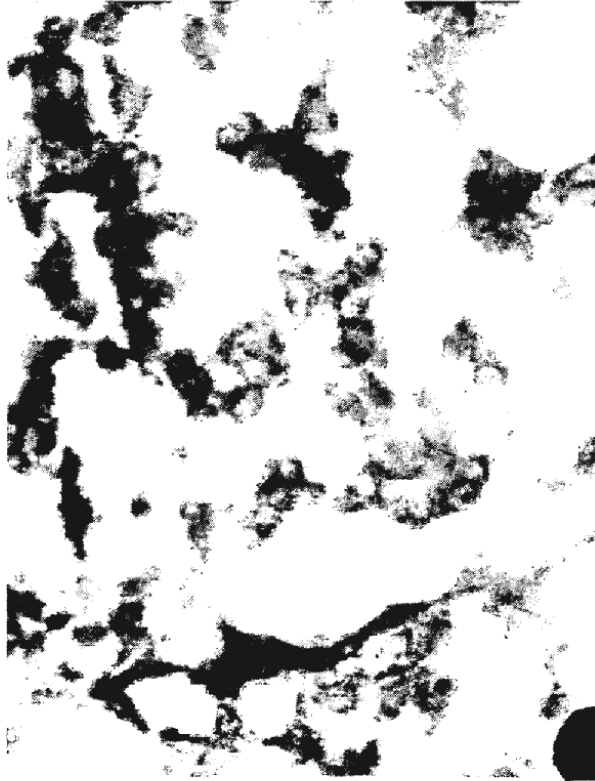


FIGURA 23 (parte 2)

**TINCIÓN DE INMUNOHISTOQUÍMICA DE MUESTRAS DE PACIENTES CON MELANOMA.**

PIEL CONGELADA, MELANOMA - CONTROL POSITIVO

MUESTRA 1: ESTA MUESTRA DE MELANOMA SE OBTUVO DE UNA HEMBRA DE 83 AÑOS DE EDAD



FAB FRAG 1: d1B5, CÉLULAS MALIGNAS 40X



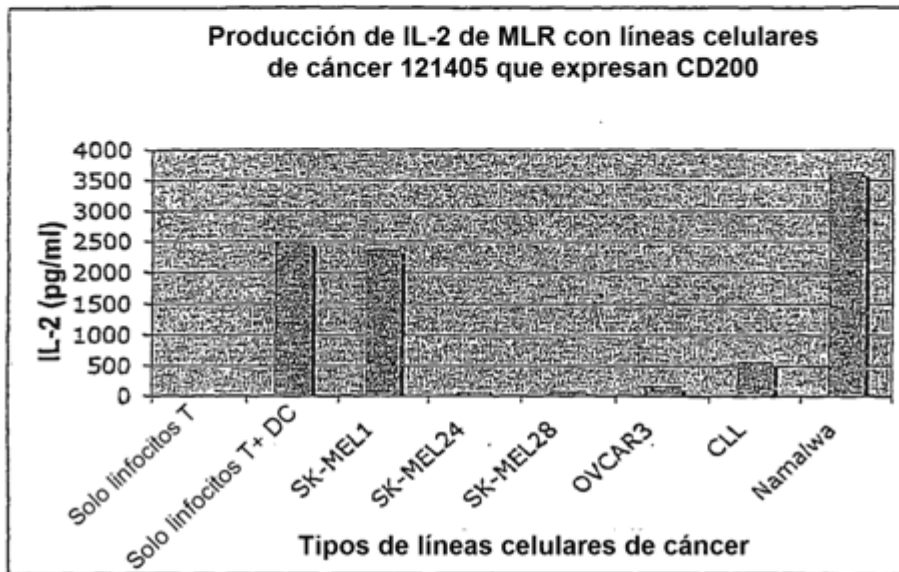
FAB FRAG 2: C2AB7, CÉLULAS MALIGNAS 40X

**FIGURA 24**

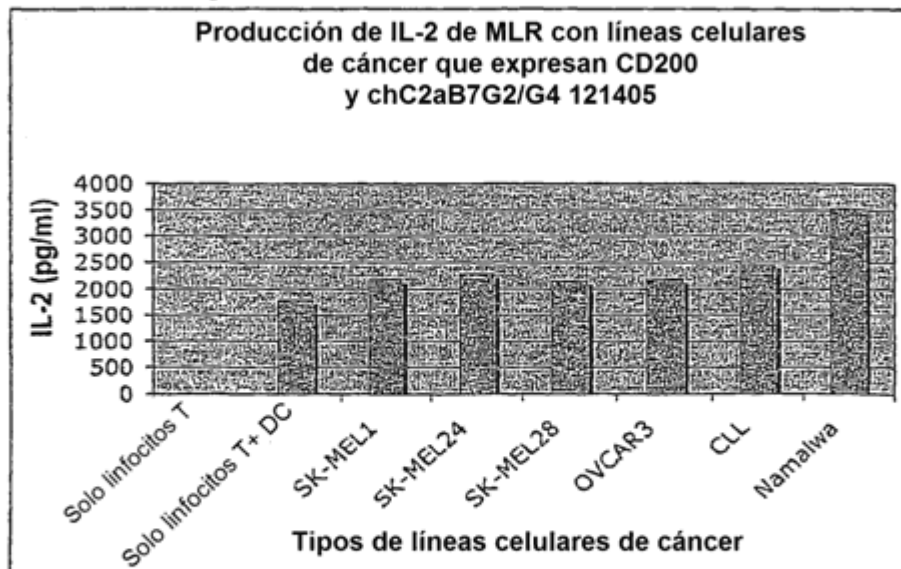
**FIGURA 25**

**Producción de IL-2 en MLR con líneas celulares de cáncer.**

**A. En ausencia de anticuerpo**

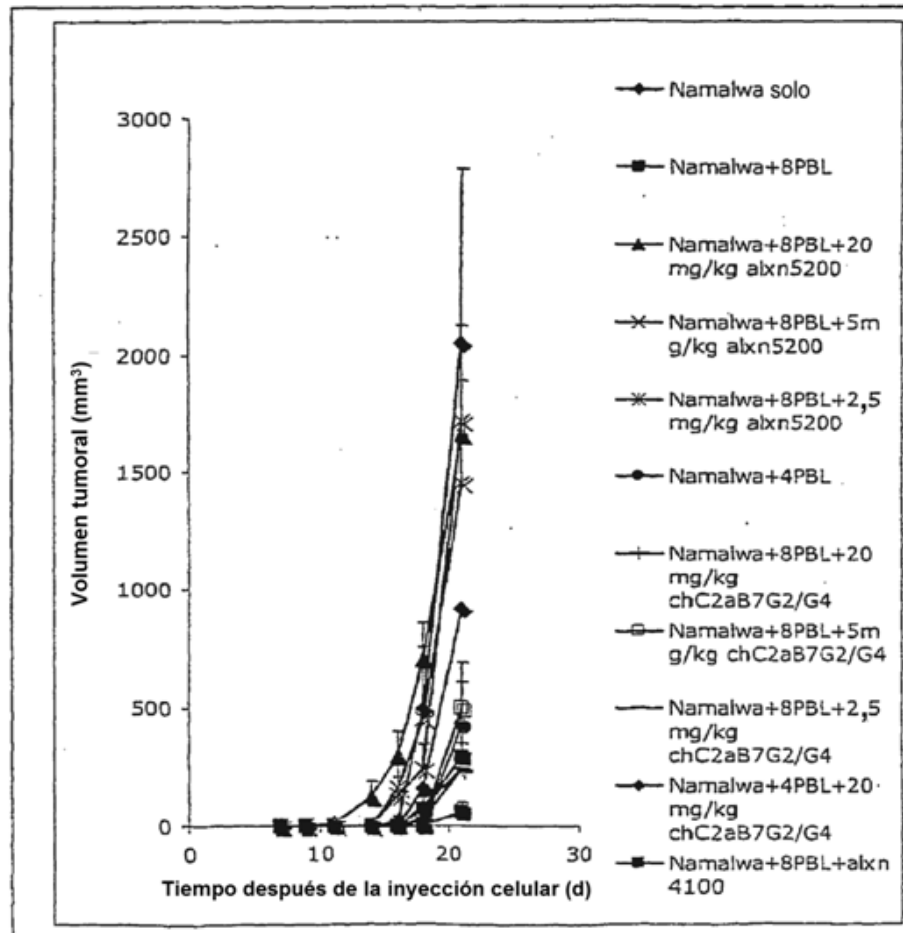


**B. En presencia de anticuerpo**



**FIGURA 26**

Volúmenes tumorales en el modelo Namalwa/PBL (sin expresión de CD200) en comparación con grupos tratados con construcción anti-CD200 G1 o G2G4.



Expresión de la superficie celular de CD200 en células CD3+ humanas después de activación con mOKT3

Linfocitos T activados con anti-CD3

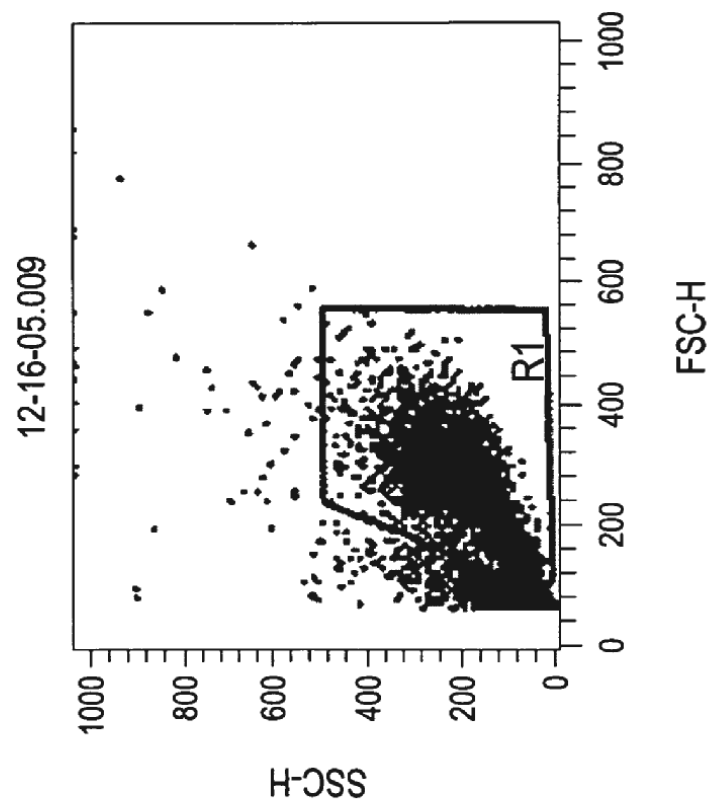
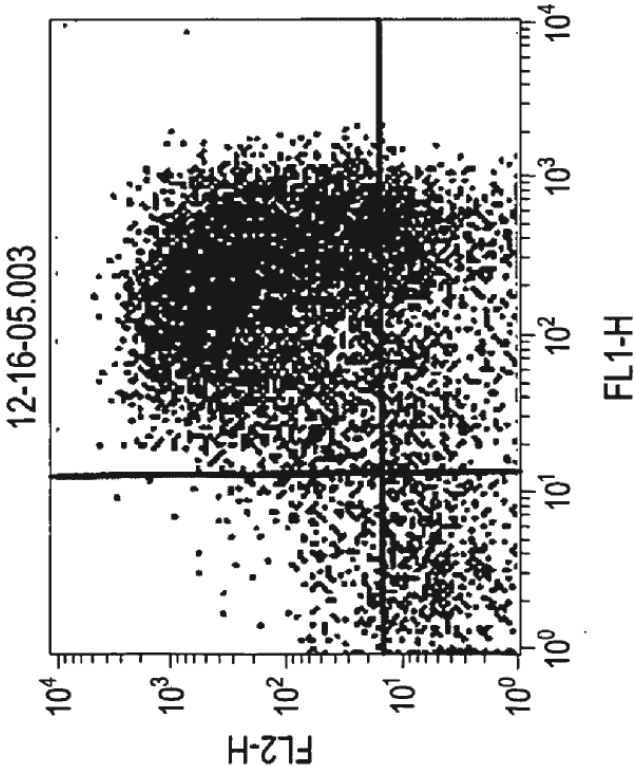


FIGURA 27 (parte 1)

Expresión de la superficie celular de CD200 en células CD3+ humanas después de activación con mOKT3

CD25 FITC/CD200 PE



Archivo: 12-16-05.003  
Sucesos Seleccionados: 9225  
Sucesos Totales: 10000  
Ubicación del Cuád: 14, 15

| Cuád | Sucesos | % Seleccionados | % Total |
|------|---------|-----------------|---------|
| UL   | 306     | 3,32            | 3,06    |
| UR   | 6902    | 74,82           | 69,02   |
| LL   | 603     | 6,54            | 6,03    |
| LR   | 1414    | 15,33           | 14,14   |

FIGURA 27 (parte 2)

Expresión de la superficie celular de CD200 en células CD3+ humanas después de activación con mOKT3

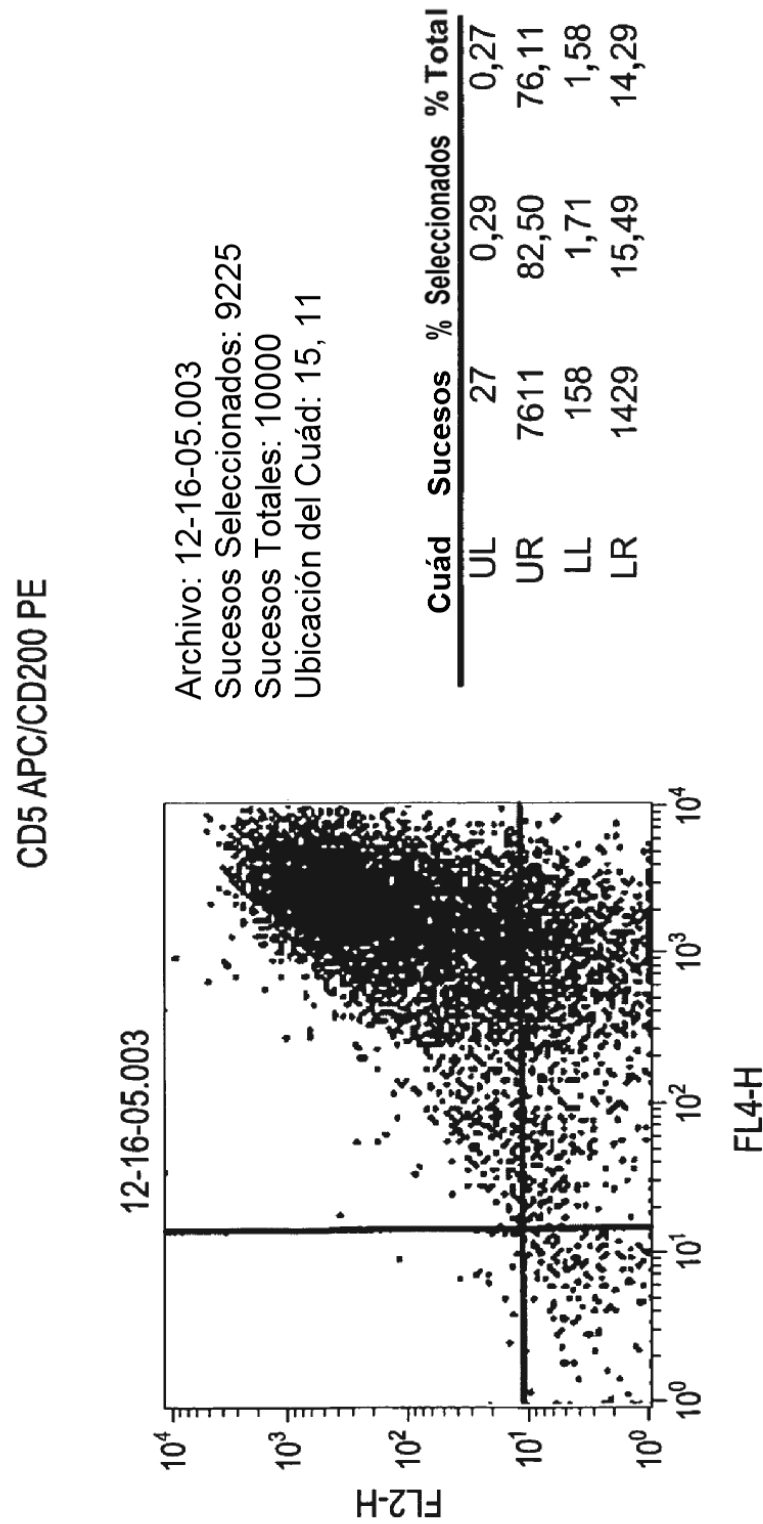


FIGURA 27 (parte 3)

Expresión de la superficie celular de CD200 en células CD3+ humanas después de activación con mOKT3

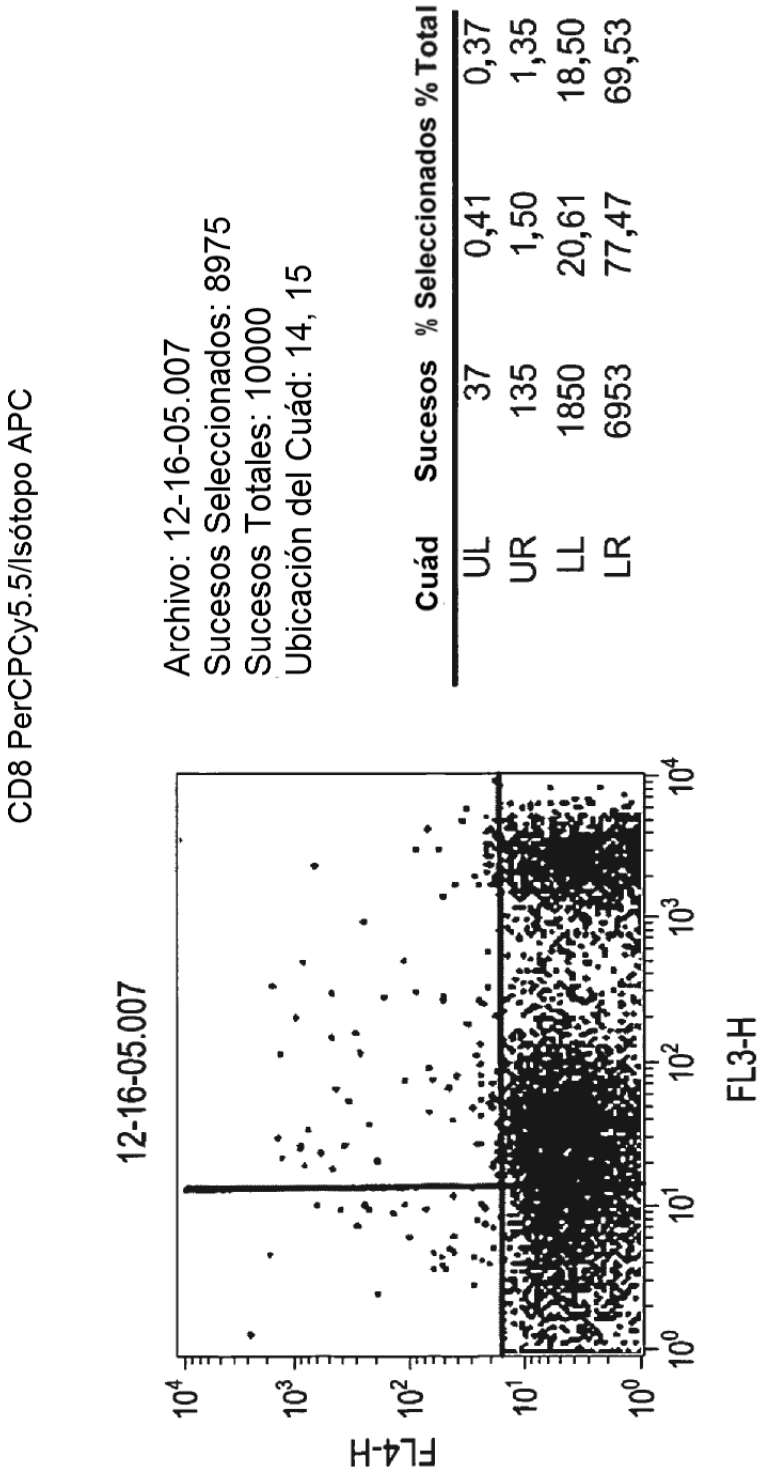


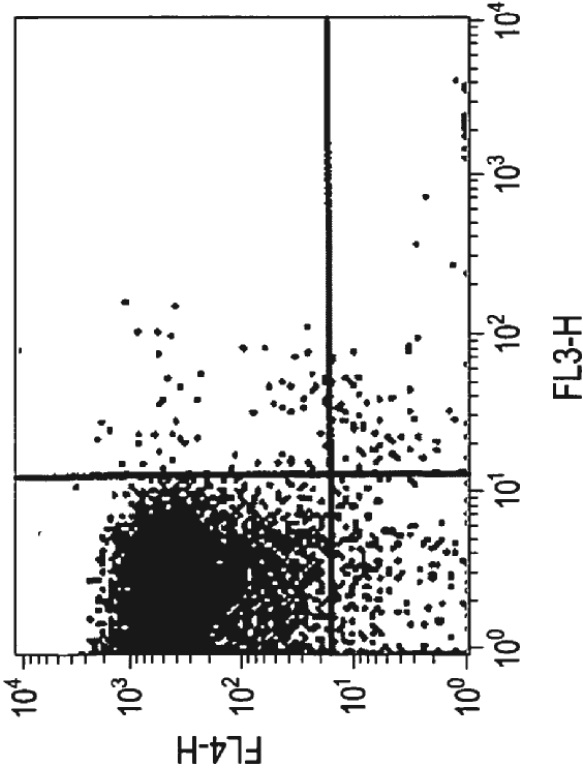
FIGURA 27 (parte 4)

Expresión de la superficie celular de CD200 en células CD3+ humanas después de activación con mOKT3

Isótopo PerCPy5.5/CD4 APC

12-16-05.008

Archivo: 12-16-05.008  
Sucesos Seleccionados: 9057  
Sucesos Totales: 10000  
Ubicación del Cuád: 14, 15



| Cuád | Sucesos | % Seleccionados | % Total |
|------|---------|-----------------|---------|
| UL   | 8697    | 96,03           | 86,97   |
| UR   | 67      | 0,74            | 0,67    |
| LL   | 219     | 2,42            | 2,19    |
| LR   | 74      | 0,82            | 0,74    |

FIGURA 27 (parte 5)

Expresión de la superficie celular de CD200 en células CD3+ humanas después de activación con mOKT3

CD8 PerCPCy5.5/CD4 APC

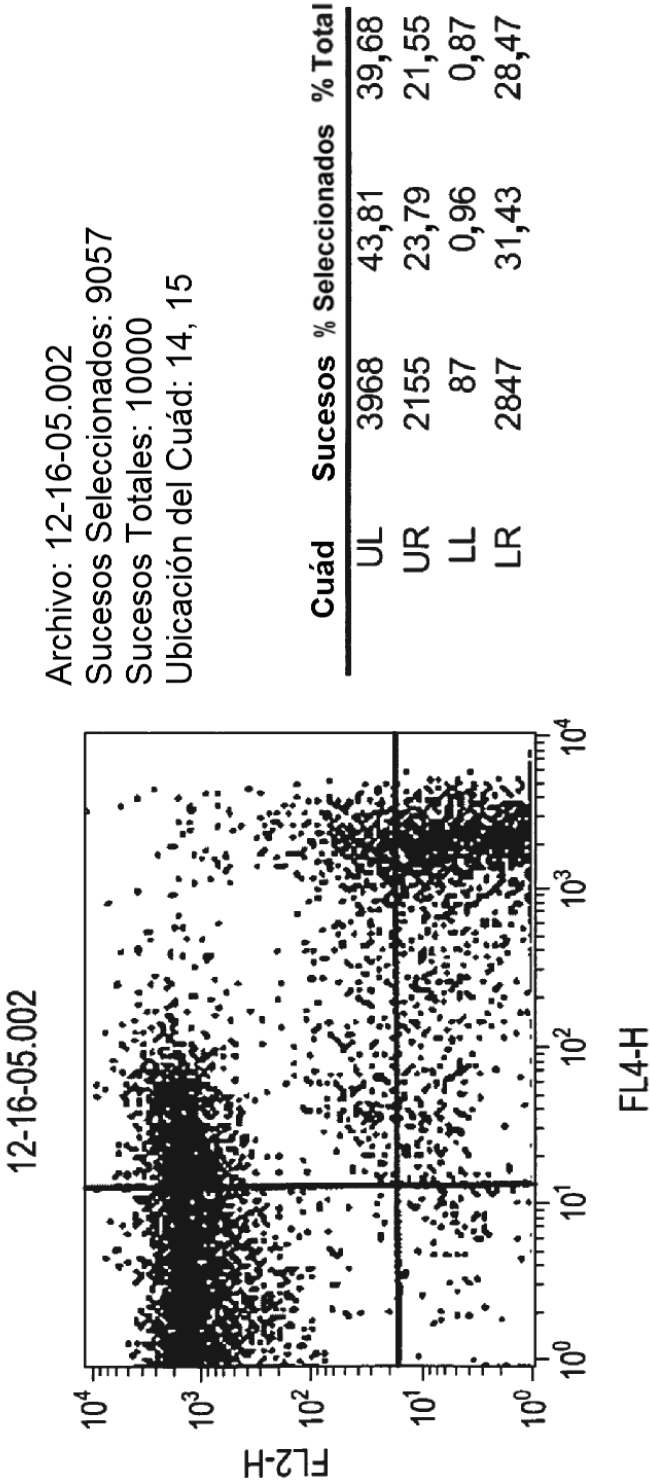


FIGURA 27 (parte 6)

LOS LINFOCITOS T HUMANOS ACTIVADOS A TRAVÉS DE SEÑALIZACIÓN DE RECEPTORES  
DE LINFOCITOS T SIRVEN COMO DIANAS SENSIBLES PARA ADCC MEDIADA POR ANTI-CD200

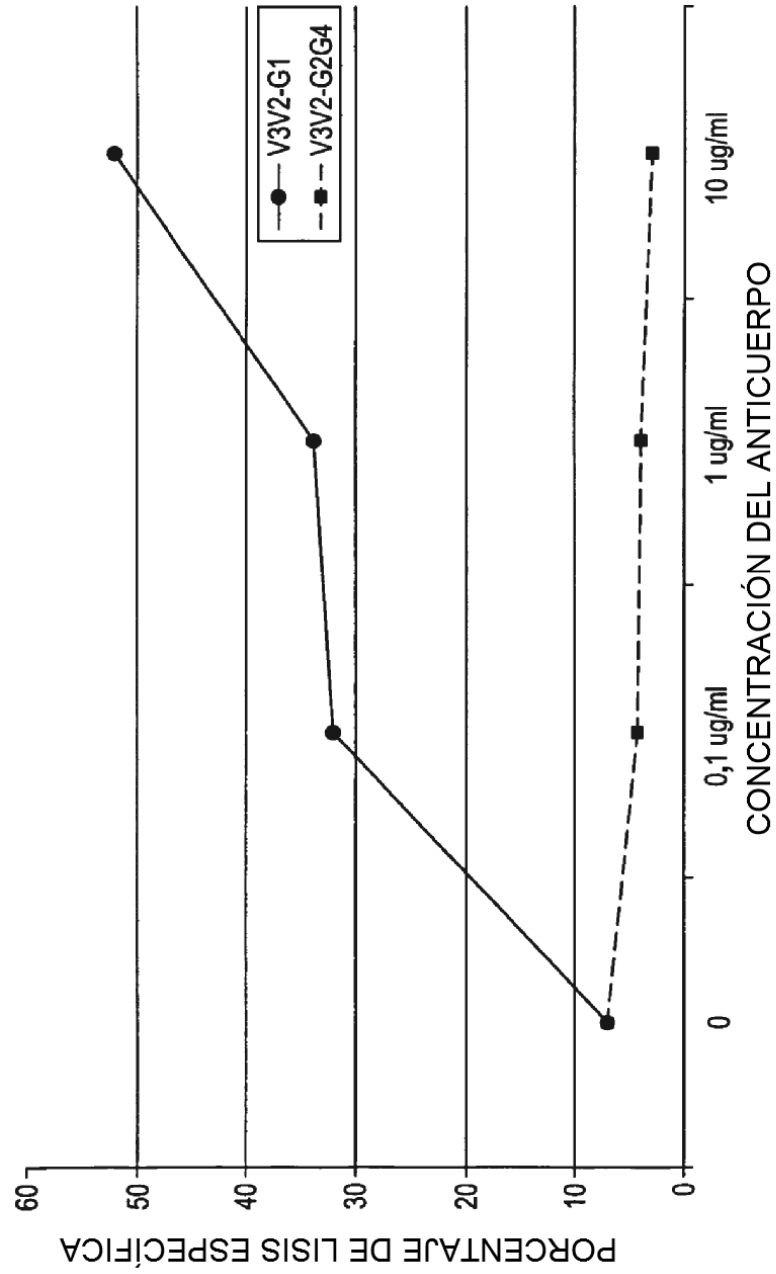


FIGURA 28A

LOS LINFOCITOS T HUMANOS ACTIVADOS A TRAVÉS DE SEÑALIZACIÓN DE RECEPTORES DE LINFOCITOS T SIRVEN COMO DIANAS SENSIBLES PARA ADCC MEDIADA POR ANTI-CD200

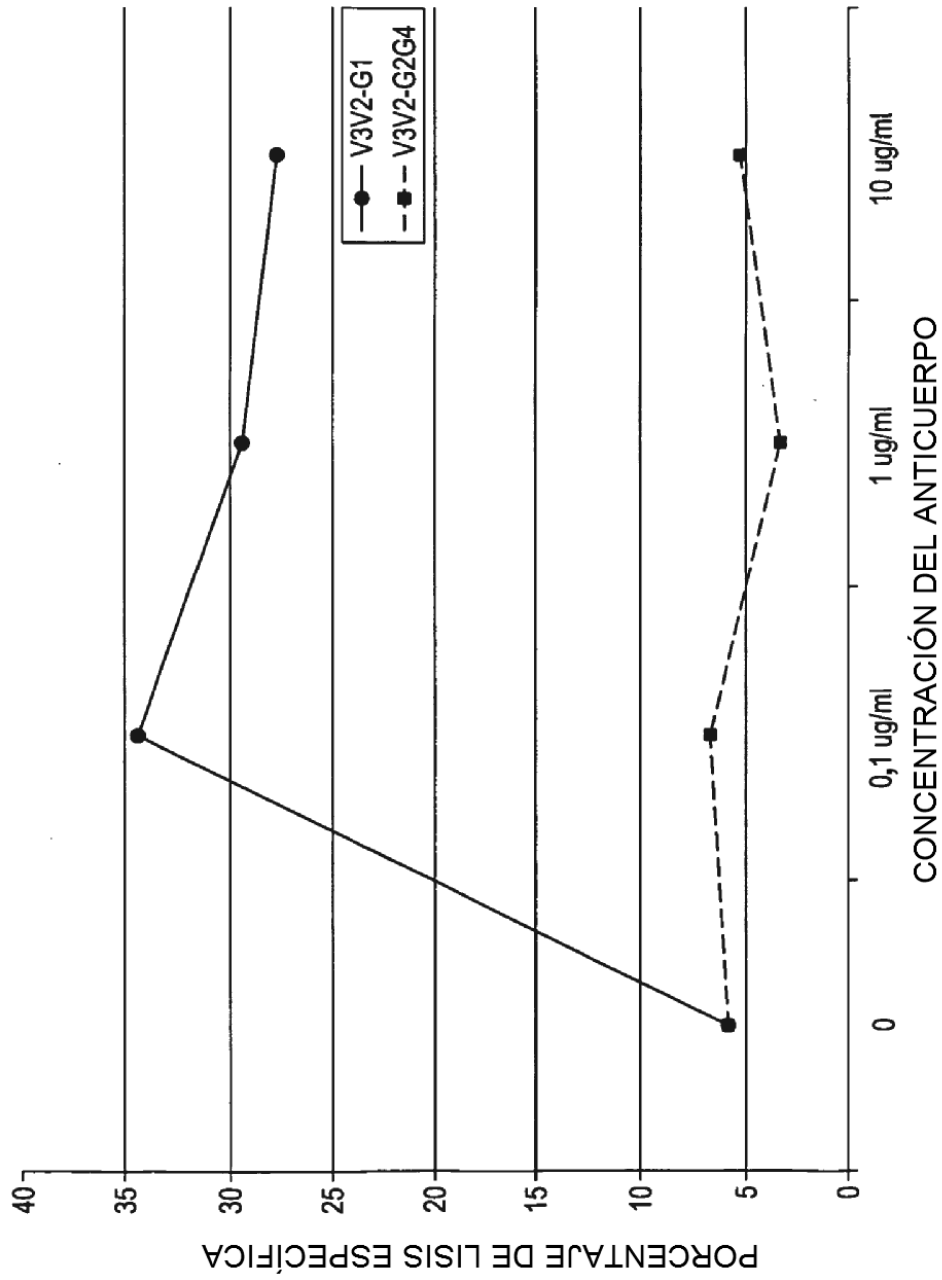


FIGURA 28B

| EXPRESIÓN DE CD200 EN CÉLULAS BRILLANTES CD38+<br>(CÉLULAS EN PLASMA) |           |                          |                                                                      |                                                                                                      |                                        |
|-----------------------------------------------------------------------|-----------|--------------------------|----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| MUESTRA                                                               | ESTADO    | ISÓTOPO DE CADENA LIGERA | UMBRAL ESTABLECIDO A TRAVÉS DE CONTROL DE ISÓTOPO (EXPRESADO COMO %) | UMBRAL ESTABLECIDO A TRAVÉS DE CONTROL DE ISÓTOPO (EXPRESADO COMO INTENSIDAD DE LA MEDIA GEOMÉTRICA) | TRATAMIENTO CLÍNICO ACTUAL             |
| 1                                                                     | NORMAL    | POLICLONAL               | 48                                                                   | 6575                                                                                                 | ND                                     |
| 2                                                                     | NORMAL    | POLICLONAL               | 48                                                                   | 19411                                                                                                | ND                                     |
| 3                                                                     | NORMAL    | POLICLONAL               | 33                                                                   | 87084                                                                                                | ND                                     |
| 4                                                                     | MIELOMA M | KAPPA                    | 12                                                                   | 4056                                                                                                 | MELFALÁN, VELCADE                      |
| 5                                                                     | MIELOMA M | KAPPA                    | 12                                                                   | 3091                                                                                                 | ATO, VELCADE, ARANESP, ZOMETA          |
| 6                                                                     | MIELOMA M | NEGATIVO                 | 14                                                                   | 2162                                                                                                 | COUMADIN, ARANESP, DVD (DOX, VIN, DEX) |
| 7                                                                     | MIELOMA M | POLICLONAL               | 37                                                                   | 3419                                                                                                 | NINGUNO                                |
| 8                                                                     | MIELOMA M | KAPPA                    | 71                                                                   | 4024                                                                                                 | ZOMETA, PREDNISONA                     |
| 9                                                                     | MIELOMA M | KAPPA                    | 76                                                                   | 1506                                                                                                 | ARANESP, ZOMETA                        |
| 10                                                                    | MIELOMA M | KAPPA                    | 82                                                                   | 9056                                                                                                 | HTN, PCTA                              |
| 11                                                                    | MIELOMA M | KAPPA                    | 85                                                                   | 5388                                                                                                 | PREDNISONA, ZOMETA                     |
| 12                                                                    | MIELOMA M | KAPPA                    | 89                                                                   | 23269                                                                                                | ZOMETA, COUMADIN                       |
| 13                                                                    | MIELOMA M | LAMBDA                   | 95                                                                   | 1535                                                                                                 | ZOMETA, IVIG, BIAVIN, MEDROL           |

FIGURA 29