

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 590 684**

51 Int. Cl.:

C07K 14/47 (2006.01)

C07K 16/18 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.02.2003** **E 11161716 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.07.2016** **EP 2368907**

54 Título: **Anticuerpos anti-Abeta y su uso**

30 Prioridad:

20.02.2002 EP 02003844

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

23.11.2016

73 Titular/es:

F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (50.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH y
MORPHOSYS AG (50.0%)

72 Inventor/es:

BARDROFF, MICHAEL;
BOHRMANN, BERND;
BROCKHAUS, MANFRED;
HUBER, WALTER;
KRETZSCHMAR, TITUS;
LÖHNING, CORINNA;
LOETSCHER, HANSRUEDI;
NORDSTEDT, CHRISTER y
ROTHER, CHRISTINE

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 590 684 T3

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

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos anti-Abeta y su uso

- 5 La presente descripción se refiere a una molécula de anticuerpo capaz de reconocer específicamente dos regiones del péptido β -A4, en donde la primera región comprende la secuencia de aminoácidos AEFRHDSGY como se muestra en SEQ ID NO: 1 o un fragmento de la misma y en donde la segunda región comprende la secuencia de aminoácidos VHHQKLFFAEDVG como se muestra en SEQ ID NO: 2 o un fragmento de la misma. Además, se desvelan moléculas de ácidos nucleicos que codifican la molécula de anticuerpo y vectores y hospedantes que comprenden dicha molécula de ácidos nucleicos. Además, la presente descripción proporciona composiciones, preferentemente composiciones farmacéuticas o de diagnóstico, que comprenden los compuestos de la descripción, así como usos específicos de las moléculas de anticuerpo, moléculas de ácidos nucleicos, vectores u hospedantes de la descripción.
- 10
- 15 Diversos documentos se citan a través del texto de esta memoria. Cada uno de los documentos citados en el presente documento (incluyendo algunas especificaciones del fabricante, instrucciones, etc.) están incorporados por el presente documento como referencia.
- Aproximadamente el 70% de todos los casos de demencia son debidos a la enfermedad de Alzheimer que está asociada al daño selectivo de regiones del cerebro y circuitos neuronales críticos para la cognición. La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por laberintos neurofibrilares en particular en neuronas piramidales del hipocampo y numerosas placas de amiloide que contienen mayormente un centro denso de depósitos de amiloide y halos difusos.
- 20
- Las placas neuríticas contienen grandes cantidades de un péptido predominantemente fibrilar denominado "amiloide β ", "A-beta", "A β 4", " β -A4" o "A β ", véase Selkoe (1994), *Ann. Rev. Cell. Biol.* 10, 373-403, Koo (1999), *PNAS* Vol. 96, pp. 9.989-9.990, documento US 4.666.829 o Glenner (1984), *BBRC* 12, 1.131. Este amiloide β está derivado de la "proteína precursora de Alzheimer/proteína precursora de β -amiloide" (APP). Las APPs son glicoproteínas integrales de membrana (véase Sisodia (1992), *PNAS* Vol. 89, pp. 6.075) y se escinden endoproteolíticamente dentro de la secuencia de A β por una proteasa de membrana de plasma, α -secretasa (véase Sisodia (1992), loc. cit). Además, la actividad secretasa adicional, en particular actividad β -secretasa y γ -secretasa conduce a la liberación extracelular de amiloide- β (A β) que comprende o bien 39 aminoácidos (A β 39), 40 aminoácidos (A β 40), 42 aminoácidos (A β 42) o 43 aminoácidos (A β 43); véase Sinha (1999), *PNAS* 96, 11094-1053; Price (1998), *Science* 282, 1.078 a 1.083; documento WO 00/72880 o Hardy (1997), *TINS* 20, 154.
- 25
- 30 Cabe señalar que A β tiene diversas formas que se dan de manera natural, por lo que las formas humanas se refieren como las anteriormente mencionadas A β 39, A β 40, A β 41, A β 42 y A β 43. La forma más prominente, A β 42, tiene la secuencia de aminoácidos (comenzando a partir del N-terminal): DAEFRHDSGYEVHHQKLFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA (SEQ ID NO: 27). En A β 41, A β 40, A β 39, los aminoácidos C-terminales A, IA y VIA están perdidos, respectivamente. En la forma A β 43 un residuo adicional de treonina está comprendido en el terminal C de la secuencia anteriormente descrita (SEQ ID NO: 27).
- 35
- 40 Se mostró que el tiempo requerido para nuclear las fibrillas de A β 40 es significativamente mayor que el de para nuclear fibrillas A β 42: véase Koo, loc. cit. y Harper (1997), *Ann. Rev. Biochem.* 66, 385-407. Como se revisó en Wagner (1999), *J. Clin. Invest.* 104, 1.239-1.332, la A β 42 se encuentra con mayor frecuencia asociada a placas neuríticas y se considera que es más fibrillogénica *in vitro*. También se sugirió que A β 42 sirve como una "semilla" en la polimerización dependiente de nucleación de péptidos A β no cristalinos ordenados; Jarrett (1993), *Cell* 93, 1.055-1.058.
- 45
- Se tiene que insistir en que ese procesamiento de APP y/o la generación de placas extracelulares que contienen depósitos proteicos no son solamente conocidos en la patología del Alzheimer sino también en sujetos que padecen de otros trastornos neurológicos y/o neurodegenerativos. Estos trastornos comprenden, entre otros, síndrome de Down, hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis tipo holandés, enfermedad de Parkinson, ELA (esclerosis lateral amiotrófica), enfermedad de Creutzfeldt Jacob, demencia relacionada con VIH y neuropatía motora.
- 50
- 55 Para prevenir, tratar y/o mejorar los trastornos y/o enfermedades relacionadas con la deposición patológica de las placas de amiloide, se tienen que desarrollar medios y métodos que interfieran ambos con la formación de placa de β -amiloide, que sean capaces de prevenir la agregación de A β y/o sean útiles en la despolimerización de depósitos de amiloide ya formados o agregados de amiloide- β .
- 60
- Por consiguiente, y teniendo en cuenta los defectos graves de la biología de amiloide modificada y/o patológica, son altamente deseables medios y métodos para tratar los trastornos relacionados con amiloide. En particular, se desean fármacos efectivos que o bien interfieran con la agregación patológica de amiloide o que sean capaces de despolimerización de A β agregado. Además, son deseables medios de diagnóstico para detectar, entre otros, placas de amiloide.
- 65

Por tanto, el problema técnico de la presente invención es cumplir con las necesidades anteriormente descritas en el presente documento.

Por consiguiente, la presente descripción se refiere a una molécula de anticuerpo capaz de reconocer específicamente dos regiones del péptido β -A4/A β 4, en donde la primera región comprende la secuencia de aminoácidos AEFRHDSGY (SEQ ID NO: 1) o un fragmento de la misma y en el que la segunda región comprende la secuencia de aminoácidos VHHQKLVFFAEDVG (SEQ ID NO: 2) o un fragmento de la misma. En particular, la presente invención se refiere a una molécula de anticuerpo que comprende:

(a) una región VL variable que comprende las regiones determinantes de complementariedad, L-CDR1, L-CDR2 y L-CDR3, en donde:

L-CDR1 comprende SEQ ID NO: 143: Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala;

L-CDR2 comprende SEQ ID NO: 144: Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr; y

L-CDR3 comprende SEQ ID NO: 95: Leu Gln Ile Tyr Asn Met Pro Ile; y

(b) una región VH variable que comprende las regiones determinantes de complementariedad, H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3, en donde:

L-CDR1 comprende SEQ ID NO: 146: Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser;

L-CDR2 comprende SEQ ID NO: 192: Ala Ile Asn Ala Ser Gly Thr Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly; y

L-CDR3 comprende SEQ ID NO: 93: Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp Val.

En el contexto de la presente invención, el término "molécula de anticuerpo" se refiere a moléculas de inmunoglobulina completas, preferentemente IgMs, IgDs, IgEs, IgAs o IgGs, más preferentemente a IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 o IgG4, así como a partes de tales moléculas de inmunoglobulina, como fragmentos Fab o regiones VL, VH o CDR. Además, el término se refiere a moléculas de anticuerpo modificadas y/o alteradas, como anticuerpos quiméricos y humanizados. El término también se refiere a anticuerpos monoclonales o policlonales modificados o alterados, así como a anticuerpos recombinantemente o sintéticamente generados/sintetizados. El término también se refiere a anticuerpos intactos, así como a fragmentos del anticuerpo/partes del mismo, como, cadenas ligeras y pesadas separadas, Fab, Fab/c, Fv, Fab', F(ab')₂. El término "molécula de anticuerpo" también comprende derivados de anticuerpo, los anticuerpos bifuncionales y construcciones de anticuerpo, como Fvs de cadena simple (scFv), scFv biespecíficos o proteínas de fusión a anticuerpo. Más detalles sobre el término "molécula de anticuerpo" de la invención se proporciona más adelante en el presente documento.

El término "reconocer específicamente" significa según esta invención que la molécula de anticuerpo es capaz de interactuar específicamente con y/o unirse a al menos dos aminoácidos de cada una de las dos regiones de β -A4 como se definen en el presente documento. Dicho término se refiere a la especificidad de la molécula de anticuerpo, es decir, a su capacidad de discriminar entre las regiones específicas del péptido β -A4 como se definen en el presente documento y otras, región no relacionada del péptido β -A4 u otra, proteína no relacionada con APP/péptido/péptido de ensayos (no relacionados). Por consiguiente, la especificidad se puede determinar experimentalmente por métodos conocidos en la técnica y métodos como se desvelan y se describen en el presente documento. Tales métodos comprenden, pero no se limitan a, transferencias tipo Western, ensayos ELISA, RIA, ECL, IRMA y barridos de péptido. Tales métodos también comprenden la determinación de los valores K_D, entre otros, como se ilustra en los ejemplos adjuntos. El barrido de péptido (ensayo pepspot) se emplea rutinariamente para mapear epítomos lineales en un antígeno polipéptido. La secuencia primaria del polipéptido se sintetiza a su vez sobre celulosa activada con péptidos que se superponen uno a otros. El reconocimiento de ciertos péptidos por el anticuerpo a ensayar su capacidad de detectar o reconocer un antígeno/epítomo específico se valora por un desarrollo de color rutinario (anticuerpo secundario con peroxidasa de rábano y 4-cloronaftol e peróxido de hidrógeno), mediante una reacción de quimioluminiscencia o medios similares conocidos en la técnica. En el caso de, entre otros, reacciones de quimioluminiscencia, la reacción se puede cuantificar. Si el anticuerpo reacciona con un cierto conjunto de péptidos superpuestos se puede deducir la mínima secuencia de aminoácidos que es necesaria para la reacción; véase el Ejemplo ilustrativo 6 y la Tabla adjunta 2.

El mismo ensayo puede revelar dos grupos distintos de péptidos reactivos, que indica el reconocimiento de un epítomo discontinuo, es decir, conformacional en el polipéptido antigénico (Geysen (1986), *Mol. Immunol.* 23, 709-715).

Además del ensayo pepspot, se puede llevar a cabo el ensayo ELISA estándar. Tal como se demuestra en los ejemplos adjuntos, pequeños hexapéptidos se pueden acoplar a una proteína y recubrir una inmunoplaaca y reaccionar con anticuerpos a ensayar. La valoración se puede llevar a cabo por desarrollo de color estándar (por ejemplo, anticuerpo secundario con peroxidasa de rábano y tetrametil bencidina con peróxido de hidrógeno). La reacción en ciertos pocillos se valoró por la densidad óptica, por ejemplo, a 450 nm. El ruido de fondo normal (=reacción negativa) puede ser de 0,1 DO, la reacción positiva normal puede ser de 1 DO. Esto significa que la diferencia (relación) positiva/negativa puede ser de más de 10 veces. Se dan más detalles en los ejemplos adjuntos. Además, los métodos cuantitativos para determinar la especificidad y la capacidad de "reconocer específicamente" las dos regiones definidas en el presente documento del péptido β -A4 son dadas más adelante en el presente

documento.

El término "dos regiones del péptido β -A4" se refiere a dos regiones como se definen por sus secuencias de aminoácidos mostradas en SEQ ID NOs: 1 y 2, refiriéndose a los aminoácidos N-terminales 2 a 10 y a los aminoácidos centrales 12 a 25 del péptido β -A4. El término "péptido β -A4" en el contexto de esta invención se refiere a los anteriormente descritos en el presente documento A β 39, A β 41, A β 43, preferentemente a A β 40 y A β 42. A β 42 también se representa en la SEQ ID NO: 27 adjunta. Cabe señalar que el término "dos regiones del péptido β -A4" también se refiere a un "epítipo" y/o un "determinante antigénico" que comprende las dos regiones del péptido β -A4 definidas en el presente documento o partes de las mismas. Según esta descripción, dichas dos regiones del péptido β -A4 están separadas (al nivel de la secuencia de aminoácidos) en la estructura primaria del péptido β -A4 por al menos un aminoácido, preferentemente por al menos dos aminoácidos, más preferentemente por al menos tres aminoácidos, más preferentemente por al menos cuatro aminoácidos, más preferentemente por al menos cinco aminoácidos, más preferentemente al menos seis aminoácidos, más preferentemente al menos nueve aminoácidos y lo más preferentemente al menos doce aminoácidos. Tal como se muestra en el presente documento y como se documenta en los ejemplos adjuntos, los anticuerpos/moléculas de anticuerpo como se describen en el presente documento detectan/interactúan con y/o se unen a dos regiones del péptido β -A4 como se define en el presente documento, por lo cual dichas dos regiones están separadas (a nivel de la estructura primaria de la secuencia de aminoácidos) por al menos un aminoácido y por lo cual la secuencia que separa dichas dos regiones/"epítipo" pueden comprender más de diez aminoácidos, preferentemente 14 aminoácidos, más preferentemente 15 aminoácidos o 16 aminoácidos. Por ejemplo, MSR-3 Fab (como molécula de anticuerpo descrita en el presente documento) reconoce, detecta/interactúa con dos regiones en el péptido β -A4, en donde dicha primera región comprende aminoácidos 3 y 4 (EF) y dicha segunda región comprende aminoácidos 18 a 23 (VFFAED). Por consiguiente, la secuencia de separación entre la región/epítipo a detectar/reconocer tiene una longitud de 13 aminoácidos en la estructura primaria de la secuencia de aminoácidos. Igualmente, MSR N°3.4H7 IgG1, unas moléculas de anticuerpo optimizadas y maduras derivadas de MSR-3 y comprendidas en una región estructural (framework) de IgG1, detecta/interactúa con/se une a dos epítipos/regiones de β -A4 que comprenden en las posiciones 1 a 4 de la primera región (DAEF) y en las posiciones 19 a 24 de la segunda región (FFAEDV) de β -A4 como se define en el presente documento. Por consiguiente, MSR N° 3.4H7 IgG1 reconoce/detecta/interactúa con/se une a dos epítipos/regiones que están, a nivel de la secuencia de aminoácidos primaria, separados por 14 aminoácidos. Tal como se detalla en los ejemplos adjuntos, maduración por afinidad y conversión de fragmentos Fab monovalentes a anticuerpos IgG1 de longitud completa pueden dar como resultado una cierta ampliación de los epítipos/regiones detectados en ensayos pepspot, ELISA y similares. Por lo tanto, las moléculas de anticuerpo de la descripción son capaces de reconocer simultáneamente e independientemente dos regiones del péptido β -A4/A β 4 en donde dichas regiones comprenden la secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 1 (o partes de la misma) y la secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 2 (o una parte(s) de la misma). Debido a la ampliación potencial de epítipos como se detalla en el presente documento, sin embargo, también se prevé que los aminoácidos en proximidad cercana a las secuencias SEQ ID NO: 1 y 2 se detectan/reconocen, es decir, que los aminoácidos adicionales son parte de las dos regiones a detectar/reconocer. Por consiguiente, también se prevé que, por ejemplo, el primer aminoácido de A β (1-42) como se define en el presente documento, denominado D (ácido aspártico) es parte de un epítipo a detectar/reconocer o que los aminoácidos localizados después de la región A β (1-42) como se define en SEQ ID NO: 2 se detectan/reconocen. Dicho aminoácido adicional puede, por ejemplo, ser el aminoácido en la posición 26 de SEQ ID NO: 27 (β A4/A β (1-42)), denominado S (Serina).

El término también puede referirse a un epítipo conformacional, un epítipo estructural o un epítipo discontinuo que consiste en dichas dos regiones o partes de las mismas; véase también Geysen (1986), loc. cit. En el contexto de esta invención, un epítipo conformacional está definido por dos secuencias de aminoácidos distintas separadas en la secuencia primaria que se juntan sobre la superficie cuando el polipéptido se pliega a la proteína nativa (Sela, (1969) *Science* 166, 1.365 y Laver, (1990) *Cell* 61, 553-6). Las moléculas de anticuerpo de la presente invención se prevén que específicamente se unen a/interactúan con epítipo(s) conformacional(es)/estructural(es) compuestos de y/o comprendiendo las dos regiones de β -A4 descritas en el presente documento o partes de las mismas como se describe más adelante en el presente documento. Las "moléculas de anticuerpo" de la presente invención se cree que comprenden una especificidad doble simultánea e independiente a (a) un tramo de aminoácidos que comprende los aminoácidos 2 a 10 (o una parte(s) del mismo) de β -A4 y un tramo de aminoácidos que comprende los aminoácidos 12 a 25 (o una parte(s) del mismo) de β -A4 (SEQ ID NO: 27). Fragmentos o partes de estos tramos comprenden al menos dos, más preferentemente al menos tres aminoácidos. Fragmentos o partes preferidas son en la primera región/tramo de SEQ ID NO: 27 las secuencias de aminoácidos AEFRHD, EF, EFR, FR, EFRHDSG, EFRHD o HDSG y en la segunda región/tramo de SEQ ID NO: 27 las secuencias de aminoácidos HHQKL, LV, LVFFAE, VFFAED, VFFA o FFAEDV. Tal como se mencionó anteriormente, dichos fragmentos también pueden comprender aminoácidos adicionales o pueden ser partes de los fragmentos definidos en el presente documento. Ejemplos específicos son DAE, DAEF, FRH o RHDSG.

En la técnica se han descrito un número de anticuerpos que reconocen específicamente péptidos A β . Estos anticuerpos principalmente se han obtenido inmunizando animales con A β 1-40 o A β 1-42 o fragmentos de los mismos usando tecnologías estándar. De acuerdo con los datos publicados, los anticuerpos monoclonales que se generaron por inmunización con el péptido As completo (1-40 o 1-42) reconocen exclusivamente un epítipo cerca del N-terminal de A β . Además, los ejemplos son los anticuerpos BAP-1 y BAP-2 (Brockhaus, no publicados) que se

generaron por inmunización de ratones con A β 1-40 y que reconocen los aminoácidos 4-6 en el contexto de péptidos A β mayores, véase el Ejemplo adjunto 7, Tabla 2 y el Ejemplo 12, Tabla 7. Los anticuerpos que reconocen la parte media de A β derivan de inmunizaciones con péptidos más pequeños. Por ejemplo, el anticuerpo 4G8 se generó por inmunización con el péptido A β 1-24 y reconoce exclusivamente la secuencia 17-24 (Kim, (1988) *Neuroscience Research Communications* 2, 121-130). Muchos otros anticuerpos monoclonales se han generado inmunizando ratones con fragmentos derivados de A β , y anticuerpos que reconocen el extremo C-terminal de A β 1-40 y A β 1-42 se usan ampliamente para distinguir y cuantificar los correspondientes péptidos A β en fluidos y tejidos biológicos por ELISA, transferencia tipo Western y análisis inmunohistoquímico (Ida y col., (1996) *J. Biol. Chem.* 271, 22.908-22.914; Johnson-Wood y col., (1997), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1994), 1.550-1.555; Suzuki y col., (1994), *Science* 264, 1.336-1.340; Brockhaus (1998), *Neuro Rep.* 9, 1.481-1.486). BAP-17 es un anticuerpo monoclonal de ratón que se ha generado inmunizando ratones con el fragmento 35-40 de A β . Específicamente reconoce el extremo C-terminal de A β 1-40 (Brockhaus (1998) *Neuroreport* 9, 1.481-1.486).

Se cree que la inmunización con antígenos dependientes de linfocito T (con frecuencia inmunógenos pobres) requiere de una escisión proteolítica del antígeno en los endosomas de células que presentan el antígeno. La selección *in vivo* de anticuerpos de alta afinidad después de la inmunización se conduce por el contacto de linfocitos T ayudantes con células que presentan el antígeno. Las células que presentan el antígeno solamente presentan péptidos cortos y no polipéptidos de gran tamaño. Por consiguiente, estas células tienen una complicada maquinaria (pero bien conocida) para introducir por endocitosis antígeno(s), degradar el(los) antígeno(s) en endosomas, combinar péptidos seleccionados con moléculas CMH de clase II adecuadas, y para exportar el complejo péptido-CMH a la superficie celular. Esto es donde se da el reconocimiento específico a antígeno por linfocitos T, con el objetivo de proporcionar ayuda a la maduración de linfocitos B. Los linfocitos B que reciben la mayoría de la ayuda de los linfocitos T tienen la mejor oportunidad de desarrollarse dentro de las células secretoras de anticuerpo y de proliferar. Esto muestra que el procesamiento de antígeno por proteólisis es una etapa importante para la generación de una respuesta de anticuerpo de alta afinidad *in vivo* y puede explicar el dominio del epítipo A β N-terminal en los anticuerpos monoclonales y policlonales de la técnica anterior derivados por inmunización.

Por el contrario, la selección de anticuerpos/moléculas de anticuerpo de la presente invención se conduce por la adherencia física de fagos que expresan Fab al antígeno. No hay degradación del antígeno implicado en este proceso de selección *in vitro*. Los fagos que expresan el Fab con la más alta afinidad hacia el antígeno se seleccionan y propagan. Una genoteca sintética como se emplea en los ejemplos adjuntos para seleccionar moléculas de anticuerpo específicas según esta invención es particularmente apropiada para evitar cualquier sesgo para epítopos continuos sencillos que con frecuencia se encuentra en genotecas derivadas de linfocitos B inmunizados.

Cabe señalar que la técnica anterior no ha descrito moléculas de anticuerpo que reconocen dos regiones independientes de A β 4 que reconocen específicamente un epítipo(s) discontinuo(s)/estructural(es)/conformacional(es) y/o que son capaces de reconocer simultáneamente e independientemente dos regiones/epítopos de A β 4.

La vacunación de ratones transgénicos que sobreexpresan APP V717F humana mutante (ratones PDAPP) con A β 1-42 dio como resultado una prevención casi completa de la deposición de amiloide en el cerebro cuando el tratamiento se inició en animales jóvenes, es decir, antes del inicio de neuropatologías, mientras que en animales más viejos se observó una reducción de placas ya formadas sugiriendo el aclaramiento de placas mediado por anticuerpo (Schenk y col., (1999), *Nature* 400, 173-177). Los anticuerpos generados por este procedimiento de inmunización se reactivaron frente al terminal N de A β 4 que incluye un epítipo alrededor de los aminoácidos 3-7 (Schenk y col., (1999), loc. cit.; documento WO 00/72880). La inmunización activa con A β 1-42 también redujo el deterioro conductual y la pérdida de memoria en diferentes modelos transgénicos para la enfermedad de Alzheimer (Janus y col., (2000) *Nature* 408, 979-982; Morgan y col., (2000) *Nature* 408, 982-985). Estudios posteriores con anticuerpos periféricamente administrados, es decir, inmunización pasiva, han confirmado que los anticuerpos pueden entrar en el sistema nervioso central, decorar placas e inducir el aclaramiento de placas de amiloide preexistentes en ratones transgénicos APP (ratones PDAPP) (Bard y col., (2000) *Nat. Med.* 6, 916-919; documento WO 00/72880). En estos estudios, los anticuerpos monoclonales con la eficacia más potente *in vivo* y *ex vivo* (desencadenando fagocitosis en células microgliales exógenas) son aquellos que reconocen epítopos 1-5 N-terminales de A β 4 (mab 3D6, IgG2b) o 3-6 (mab 10D5, IgG1). Así mismo, los anticuerpos policlonales aislados de ratones, conejos o monos después de la inmunización con A β 1-42 presentaron una especificidad de epítipo N-terminal similar y eran también efectivos en desencadenar fagocitosis y aclaramiento de placa *in vivo*. Por el contrario, los anticuerpos específicos C-terminales que se unen a A β 1-40 o A β 1-42 con alta afinidad no indujeron fagocitosis en el ensayo *ex vivo* y no eran efectivos *in vivo* (documento WO 00/72880). El anticuerpo monoclonal m266 (documento WO 00/72880) se enfrentó a A β 13-28 (dominio central de A β) y el mapeado del epítipo confirmó la especificidad del anticuerpo para cubrir los aminoácidos 16-24 en la secuencia de A β . Este anticuerpo no se une bien a A β agregado y depósitos de amiloide y simplemente reacciona con A β soluble (monomérico), es decir, propiedades que sean similares a otro anticuerpo monoclonal bien conocido y comercialmente disponible (4G8; Kim, (1988) *Neuroscience Research Communications* 2, 121-130; comercialmente disponible en Signet Laboratories Inc. Dedham, MA EEUU) que reconoce el mismo epítipo.

In vivo, recientemente se encontró que el anticuerpo m266 reduce marcadamente la deposición de A β en ratones PDAPP después de la administración periférica (DeMattos, (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 8.850-8.855). Sin embargo, y a diferencia de los anticuerpos específicos N-terminales, m266 no decoró las placas de amiloide *in vivo*,

y por lo tanto se tuvo la hipótesis de que el peso del cerebro As se reducía por un desplazamiento inducido por anticuerpo en el equilibrio entre A β de plasma y del SNC dando como resultado la acumulación de A β derivado del cerebro en la periferia, firmemente formando complejo con m266 (DeMattos, (2001) loc. cit.).

5 El anticuerpo/molécula de anticuerpo de la presente descripción, uniéndose simultáneamente (por ejemplo en un epítipo estructural/conformacional formado por la región N-terminal y central de A β 4 como se describe en el presente documento) e independientemente (por ejemplo en los ensayos pepspot como se documentan en la parte experimental adjunta) a los epítipos N-terminales y centrales, combina las propiedades de un anticuerpo específico N-terminal y un anticuerpo específico a epítipo central en una molécula sencilla. Los anticuerpos con la especificidad doble a epítipo, como se describen en la presente invención, se consideran que son más efectivos *in vivo*, en particular en marcos médicos y diagnósticos para, por ejemplo, reducir el peso de la placa de amiloide o la amiloidogénesis o para la detección de depósitos y placas de amiloide. Es bien conocido que en el proceso de agregación de A β 4 y deposición de amiloide se dan cambios conformacionales, y aunque el epítipo central es fácilmente accesible en A β 4 soluble parecen estar escondidos y ser menos reactivos en A β 4 agregado o fibrilar. El hecho de que el anticuerpo m266 específico a epítipo central/medio es efectivo *in vivo* indica que la neutralización de A β 4 soluble también puede ser un parámetro crítico. Los anticuerpos/moléculas de anticuerpo de la presente descripción, debido a la especificidad doble de epítipo, se pueden unir tanto a A β 4 fibrilar como soluble con eficacia similar, permitiendo así la interacción con placas de amiloide, así como neutralización de Asp4 soluble. El término “unirse simultáneamente e independientemente a los epítipos N-terminales y centrales/medios de A β 4” que se emplea en el presente documento en el contexto de las moléculas de anticuerpo como se describen en el presente documento se refiere al hecho de que los anticuerpos/moléculas de anticuerpo descritos en el presente documento pueden detectar y/o unirse a ambos epítipos simultáneamente, es decir a la vez (por ejemplo, en epítipos conformacionales/estructurales formados por el epítipo N-terminal (o una parte(s) de los mismos) y epítipos centrales (o una parte(s) de los mismos) de A β 4 como se definen en el presente documento) y que las mismas moléculas de anticuerpo, sin embargo, también son capaces de detectar/unirse a cada uno de los epítipos definidos de una forma independiente, entre otras, demostrada en el análisis pepspot mostrado en los ejemplos.

El aclaramiento de las placas de amiloide *in vivo* en ratones PDAPP después de aplicación directa de los anticuerpos al cerebro no es dependiente del subtipo de IgG y también puede implicar un mecanismo que no está mediado por Fc, es decir, no implicación de microglia activada en el aclaramiento de placa (Bacskai, (2001), Resumen del 31º Encuentro Anual de la “Society for Neuroscience”, 10-15 de noviembre de 2001, San Diego). Esta observación es contraria a lo que se ha postulado en un estudio anterior por Bard (2000), loc. cit.

En otro estudio, se encontró que los anticuerpos enfrentados a péptidos A β 1-28 y A β 1-16 son eficaces en desagregar fibrillas de A β *in vivo*, mientras que un anticuerpo específico para A β 13-28 era mucho menos activo en este ensayo (Solomon, (1997), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 4.109-4.112). Se ha informado de la prevención de la agregación de A β por un anticuerpo anti-A β 1-28 (AMY-33) (Solomon, (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93, 452-455). En el mismo estudio, el anticuerpo 6F/3D que se ha enfrentado al fragmento 8-17 de A β ligeramente interfirió con la agregación de A β inducida por Zn²⁺ pero no tuvo efecto sobre la autoagregación inducida por otros agentes inductores de agregación.

La eficacia de los diversos anticuerpos en estos ensayos *in vitro* se correlaciona con la accesibilidad de sus epítipos en agregados de A β 4. El terminal N está expuesto y los anticuerpos específicos N-terminales claramente inducen la despolimerización, mientras que la región central y el terminal C están escondidos y no son accesibles fácilmente y, por tanto, los anticuerpos frente a estos epítipos son mucho menos eficaces.

45 Investigaciones con respecto a la accesibilidad a epítipo para anticuerpos han demostrado que en A β agregado el epítipo N-terminal está expuesto y reacciona con el anticuerpo BAP-1, mientras que el epítipo medio o central, en realidad, permanece críptico, es decir, no se observó unión del anticuerpo 4G8. Sin embargo, en A β monomérico ambos epítipos son patentes y son igualmente reconocidos por ambos anticuerpos de la técnica anterior.

50 Por el contrario, en la presente invención, sorprendentemente se encontró que las moléculas de anticuerpo descritas en el presente documento reconocen dos secuencias de aminoácidos discontinuas, por ejemplo, un epítipo conformacional/estructural en el péptido A β . Dos “secuencias de aminoácidos discontinuas” según esta invención significa que dichas dos secuencias de aminoácidos que forman los epítipos N-terminales y centrales/medios, respectivamente, están separadas en β -A4 en su estructura primaria por al menos dos aminoácidos que no son parte de ningún epítipo.

El área de unión de un anticuerpo Fab (=paratopo) ocupa una superficie molecular de aproximadamente 30 x 30 Å en tamaño (Laver, *Cell* 61 (1990), 553-556). Esto es suficiente para contactar con residuos de 15 a 22 aminoácidos que pueden estar presentes sobre diversas horquillas superficiales. El epítipo discontinuo reconocido por las moléculas de anticuerpo como se describen en el presente documento se parece a una conformación en la cual las secuencias del péptido A β N-terminales (residuos 2 a 10 o partes de los mismos) y medias (residuos 12 a 25 o partes de los mismos) están en proximidad cercana. Solamente dentro de esta conformación, se obtienen el número máximo de contactos antígeno-anticuerpo y el estado de energía libre más bajo.

65 Basándose en cálculos energéticos se ha sugerido que un subconjunto menor de 5-6 residuos, que no se disponen en una secuencia lineal pero que están dispersos por la superficie del epítipo, contribuye la mayoría de la energía

de unión mientras que los residuos circundantes pueden simplemente constituir una formación complementaria (Laver (1990) loc. cit.).

5 Los anticuerpos/moléculas de anticuerpo como se describen en el presente documento son capaces de unirse a A β agregado y reaccionar fuertemente con placas de amiloide en el cerebro de pacientes AD (como se documenta en los ejemplos adjuntos). Además, son capaces de despolimerizar/desintegrar agregados de amiloide.

10 Sin estar ligado a teoría alguna, se cree que el epítipo conformacional/estructural (compuesto por las dos regiones de A β 4 o una parte(s) de dichas regiones como se describen en el presente documento) está parcialmente expuesto en A β agregado. Sin embargo, se sabe que la mayor parte del epítipo/región medio/segundo solo no está libremente accesible en estos agregados de A β (basado en las escasas reactividades de los anticuerpos específicos a epítipo medios 4G8 y m266). Por otro lado, y en vista de las consideraciones anteriormente mencionadas, es probable que uno o diversos residuos de la región media sean componentes del epítipo conformacional, y junto con los residuos de la región N-terminal, sean accesibles a los anticuerpos de la presente descripción, de ese modo contribuyendo significativamente a la energía de unión de la interacción anticuerpo-A β 4. La reactividad de la molécula de anticuerpo como se describe en el presente documento con el epítipo conformacional en AD agregado es por lo tanto única y claramente distinta de los anticuerpos α A β 4 descritos en la técnica anterior. Aún, tal como se ha señalado anteriormente en el presente documento, una característica adicional única de los anticuerpos/moléculas de anticuerpo como se describen en el presente documento es su capacidad de simultáneamente e independientemente unirse a/reconocer dos epítipos separados en β -A4, como se define en el presente documento y en los ejemplos adjuntos.

25 En un aspecto preferido de la descripción, la molécula de anticuerpo como se describe en el presente documento es una molécula de anticuerpo en la que las al menos dos regiones del β -A4 a reconocer específicamente por dicho anticuerpo forman un epítipo conformacional/estructural o un epítipo discontinuo; véase Geysen (1986), loc. cit.; Ghoshal (2001), *J. Neurochem.* 77, 1.372-1.385; Hochleitner (2000), *J. Imm.* 164, 4.156-4.161; Laver (1990), loc. cit. El término "epítipo discontinuo" significa en el contexto de la invención epítipos no lineales que se ensamblan a partir de residuos de porciones distantes de la cadena de polipéptido. Estos residuos se juntan sobre la superficie cuando la cadena de polipéptido se pliega dentro de una estructura tridimensional para constituir un epítipo conformacional/estructural. La presente descripción proporciona epítipos inesperados preferidos dentro de β -A4, que dan como resultado la generación de moléculas de anticuerpo específicas descritas en el presente documento, capaces de interactuar específicamente con estos epítipos. Estos anticuerpos/moléculas de anticuerpo descritos en el presente documento proporcionan la base para eficacia incrementada, y un potencial reducido para efectos secundarios. Tal como se señaló anteriormente, los anticuerpos descritos en el presente documento, sin embargo, también eran capaces de interactuar independientemente con cada una de las dos regiones/epítipos definidas de β -A4, por ejemplo, en ensayos de Pepsot como se documenta en los ejemplos adjuntos.

40 Por consiguiente, la presente invención, proporciona herramientas únicas que se pueden emplear para despolimerizar fibrillas de A β agregadas *in vivo* e *in vitro* y/o que son capaces de estabilizar y/o neutralizar un epítipo conformacional de A β monomérico y de ese modo capaces de prevenir la agregación patológica de A β . Además, se prevé que los anticuerpos de la invención se unen a depósitos de A β en el borde de las placas de amiloide en, entre otros, cerebro de Alzheimer y disuelven eficazmente las protofibrillas y fibrillas patológicas.

45 La molécula de anticuerpo de la descripción reconoce al menos dos aminoácidos consecutivos dentro de las dos regiones de A β 4 definidas en el presente documento, más preferentemente dicha molécula de anticuerpo reconoce en la primera región una secuencia de aminoácidos que comprende los aminoácidos: AEFRHD, EF, EFR, FR, EFRHDSG, EFRHD o HDSG y en la segunda región una secuencia de aminoácidos que comprende los aminoácidos: HHQKL, LV, LVFFAE, VFFAED, VFFA o FFAEDV. Fragmentos adicionales o partes ampliadas comprenden: DAE, DAEF, FRH o RHDSG.

50 Particularmente se prefiere que la molécula de anticuerpo de la descripción comprenda una región VH variable codificada por una molécula de ácidos nucleicos como se muestra en SEQ ID NO: 3, 5 o 7 o una región VH variable como se muestra en las secuencias de aminoácidos representadas en SEQ ID NO: 4, 6 o 8. Las secuencias como se muestran en SEQ ID NOs: 3 y 4 representan la región codificadora y la secuencia de aminoácidos, respectivamente, de la región VH del anticuerpo parental MSR-3 (MS-Roche 3), las secuencias en SEQ ID NOs: 5 y 6 representan la región codificadora y la secuencia de aminoácidos, respectivamente, de la región VH del anticuerpo parental MSR-7 (MS-Roche 7) y SEQ ID NOs: 7 y 8 representan la región codificadora y la secuencia de aminoácidos, respectivamente, de la región VH del anticuerpo parental MSR-8 (MS-Roche 8). Por consiguiente, la descripción también proporciona moléculas de anticuerpo que comprenden una región VL variable codificada por una molécula de ácidos nucleicos como se muestra en una SEQ ID NO seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 9, 11 o 13 o una región VL variable como la mostrada en las secuencias de aminoácidos representadas en SEQ ID NOs: 10, 12 o 14. SEQ ID NOs: 9 y 10 corresponden a la región VL de MSR-3, SEQ ID NOs: 11 y 12 corresponden a la región VL de MSR-7 y SEQ ID NOs: 13 y 14 corresponden a la región VL de MSR-8. Tal como se ilustra en los ejemplos adjuntos, los anticuerpos parentales MSR-3, -7, y -8, se emplean para generar además moléculas de anticuerpo optimizadas con propiedades y/o afinidades de unión incluso mejores. Algunas de las correspondientes y posibles estrategias se ilustran y se muestran en los ejemplos adjuntos.

La estrategia optimizada tal como se ilustra en los ejemplos adjuntos conduce a una pluralidad de anticuerpos optimizados. Estos anticuerpos optimizados comparten con los anticuerpos parentales el dominio CDR-3 de la región VH. Mientras que la región estructural original (como se muestra en la Figura adjunta 1) permanece igual, en las moléculas de anticuerpo maduras/optimizadas, se cambian regiones CDR1, CDR2 y/o CDR3 de VL. En la tabla adjunta 1 se muestran motivos de secuencia modificados ilustrativos para moléculas de anticuerpos optimizadas. Por consiguiente, dentro del alcance de la presente descripción también son moléculas de anticuerpo optimizadas que son derivadas de los MSR-3, -7 y -8 descritos en el presente documento y que son capaces de reaccionar específicamente con/reconocer específicamente las dos regiones del péptido β -A4 como se define en el presente documento. En particular, las regiones CDR, preferentemente CDR1s, más preferentemente CDR1s y CDR2s, lo más preferentemente CDR1s, CDR2s y CDR3s como se definen en el presente documento se pueden emplear para generar anticuerpos/moléculas de anticuerpo adicionales, entre otros, por métodos de injerto de CDR conocidos en la técnica; véase Jones (1986), *Nature* 321, 522-515 o Riechmann (1988), *Nature* 332, 323-327. Los anticuerpos/moléculas de anticuerpo como se describen en el presente documento, así como fragmentos o derivados de anticuerpo están derivados de los anticuerpos parentales como se describen en el presente documento y comparten, como anteriormente se describió, el dominio CDR-3 de la región VH con al menos uno de dichos anticuerpos parentales. Tal como se ilustra más adelante, también se prevé que se generan anticuerpos de clonación cruzada que son a considerar como anticuerpos/moléculas de anticuerpo optimizados/maduros de la presente descripción. Las moléculas de anticuerpo como se describen en el presente documento también pueden comprender o también pueden ser derivadas de anticuerpos/moléculas de anticuerpo que se caracterizan por regiones VH como se muestran en cualquiera de SEQ ID NOs: 32 a 45 o regiones de VL como se muestran en SEQ ID NOs: 46 a 59 o que pueden comprender una región CDR-3 como se define en cualquiera de SEQ ID NOs: 60 a 87. La molécula de anticuerpo optimizada de la presente invención comprende regiones VH y regiones VL como se representan en SEQ ID NOs: 90/91, respectivamente, o partes de las mismas. Una parte de las mismas puede ser una región(regiones) CDR, preferentemente una región(regiones) CDR-3. La molécula de anticuerpo del tipo optimizado comprende una H-CDR3 como se caracteriza en SEQ ID NO: 93 y/o una L-CDR3 como se caracteriza en SEQ ID NO: 95.

Se prefiere que los anticuerpos/moléculas de anticuerpo de la invención se caractericen por su reactividad específica con β -A4 y/o péptidos derivados de dicho β -A4. Por ejemplo, se pueden establecer densidades ópticas en los ensayos ELISA, como se ilustra en los ejemplos adjuntos, y se puede emplear la relación de las densidades ópticas para definir la reactividad específica de los anticuerpos parentales o los optimizados. Por consiguiente, un anticuerpo preferido de la invención es un anticuerpo que reacciona en un ensayo ELISA con β -A4 para llegar a una densidad óptica medida a 450 nm que sea 10 veces mayor que la densidad óptica medida sin β -A4, es decir, 10 veces sobre el ruido de fondo. Preferentemente la medición de la densidad óptica se realiza unos pocos minutos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 minutos) después del inicio de la reacción de desarrollo de color para optimizar la relación señal y ruido de fondo.

En el presente documento, las moléculas de anticuerpo descritas comprenden al menos una CDR3 de una región VL codificada por una molécula de ácidos nucleicos como se muestra en SEQ ID NOs: 15, 17 o 19 o al menos una secuencia de aminoácidos CDR3 de una región VL como se muestra en SEQ ID NOs: 16, 18 o 20 y/o dicha molécula de anticuerpo comprende al menos una CDR3 de una región VH codificada por una molécula de ácidos nucleicos como se muestra en SEQ ID NOs: 21, 23 o 25 o al menos una secuencia de aminoácidos de CDR3 de una región VH como se muestra en SEQ ID NOs: 22, 24 o 26. Lo más preferido son anticuerpos que comprenden al menos una CDR3 de una región VH como se define en el presente documento. Los dominios CDR-3 anteriormente mencionados en el presente documento se refieren a las moléculas anticuerpo parentales ilustrativas MSR-3, -7 o -8. Sin embargo, tal como se ilustra en las tablas adjuntas 1, 8 o 10, las moléculas de anticuerpo maduras y/o optimizadas obtenibles por los métodos descritos en los ejemplos adjuntos pueden comprender regiones VH, VL, CDR1, CDR2 y CDR3 modificadas. Por consiguiente, la molécula de anticuerpo se puede seleccionar entre el grupo que consiste en MSR-3, -7 y -8 o una versión madurada por afinidad de MSR-3, -7 y -8. Las versiones maduras por afinidad así como de clonación cruzada de MSR-3, -7 y -8 comprenden, entre otras, moléculas de anticuerpo que comprenden regiones CDR1, CDR2 y/o CDR3 como se muestran en la tabla 1 u 8 o caracterizadas en cualquiera de SEQ ID NOs: 15 a 20, 21 a 26, 60 a 74, 75 a 87, 92 y 93 o 94 y 95, así como en SEQ ID NOs: 354 a 413. El anticuerpo como se describe en el presente documento comprende al menos una CDR, preferentemente una CDR1, más preferentemente una CDR2, lo más preferentemente una CDR3 como se muestra en la tabla adjunta 1, 8 o como se documenta en la tabla adjunta 10.

Cabe señalar que las técnicas de maduración por afinidad son bien conocidas en la técnica, están descritas en los ejemplos adjuntos y, entre otros, en Knappik (2000), *J. Mol. Biol.* 296, 55; Krebs (2000), *J. Imm. Meth.* 254, 67-84; documentos WO 01/87337; WO 01/87338; US 6.300.064; EP 96 92 92 78.8 y referencias adicionales citadas más adelante en el presente documento.

En una realización más preferida de la invención, la molécula de anticuerpo es un anticuerpo completo (inmunoglobulina, como una IgG1, una IgG2, una IgG2b, una IgG3, una IgG4, una IgA, una IgM, una IgD o una IgE), un fragmento F(ab), Fabc, Fv, Fab', F(ab')₂, un anticuerpo de cadena simple, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo injertado con CDR, una construcción de anticuerpo bivalente, una proteína de fusión a anticuerpo, un anticuerpo de clonación cruzada o un anticuerpo sintético. También se prevé que sean variantes genéticas de genes de inmunoglobulina. Las variantes genéticas de, por ejemplo, la subclase 1 de la cadena pesada G de inmunoglobulina

(IgG1) puede comprender los marcadores alotípicos G1m(17) o G1m(3) en el dominio CH1, o el marcador alotípico el G1m(1) o G1m(no-1) en el dominio CH3. La molécula de anticuerpo de la invención también comprende anticuerpos modificados o mutantes, como IgG mutante con unión al receptor Fc aumentada o atenuada o activación de complemento. También se prevé que los anticuerpos de la invención se producen por medios convencionales, por ejemplo, la producción de anticuerpos monoclonales específicos generados por inmunización de mamíferos, preferentemente ratones, con péptidos que comprenden las dos regiones de β A4 como se definen en el presente documento, por ejemplo, región/epitopo N-terminal y central que comprende (a) aminoácidos 2 a 10 (o una parte(s) de los mismos) de β -A4 y (b) una tramo de aminoácidos que comprende los aminoácidos 12 a 25 (o una parte(s) de los mismos) de β -A4 (SEQ ID NO: 27). Por consiguiente, el experto en la técnica puede generar anticuerpos monoclonales frente a tal péptido y puede cribar los anticuerpos obtenidos para la capacidad de simultáneamente e independientemente unirse a/reaccionar con la región/epitopo N-terminal y central de β A4 como se define en el presente documento. Correspondientes métodos de cribado (screening) se describen en los ejemplos adjuntos.

Tal como se ilustra en los ejemplos adjuntos, los anticuerpos/moléculas de anticuerpo fácilmente y preferentemente se pueden construir y expresar de manera recombinante. Preferentemente, la molécula de anticuerpo de la descripción comprende al menos uno, más preferentemente al menos dos, preferentemente al menos tres, más preferentemente al menos cuatro, más preferentemente al menos cinco y lo más preferentemente seis CDRs de los anticuerpos parentales MSR-3, MSR-7 o MSR-8 definidos en el presente documento o de los anticuerpos madurados por afinidad/optimizados derivados de dichos anticuerpos parentales. Cabe señalar que también más de seis CDRs pueden estar comprendidas en los anticuerpos recombinantemente producidos de la invención. El experto en la técnica fácilmente puede emplear la información dada en los ejemplos adjuntos para deducir CDRs correspondientes de los anticuerpos parentales, así como los optimizados por afinidad. Ejemplos de anticuerpos optimizados que se han obtenido por maduración/optimización de los cuerpos parentales se muestran, entre otros, en la tabla adjunta 1. Una molécula de anticuerpo madurada/optimizada de la invención es, por ejemplo, MSR 7.9H7 que se caracteriza también por secuencias adjuntas en el presente documento, que comprenden las SEQ ID NOs: 88 a 95 y que representan la región VH de MSR 7.9H7 (SEQ ID NOs: 88 a 89), la región VL de MSR 7.9H7 (SEQ ID NOs: 90 a 91), la H-CDR3 de MSR 7.9H7 (SEQ ID NOs: 92 a 93) así como la L-CDR3 de MSR 7.9H7 (SEQ ID NOs: 94 a 95). La molécula de anticuerpo ilustrativo 7.9H7 está derivado del anticuerpo parental MSR7 y es un ejemplo de la invención particular preferido de una molécula de anticuerpo optimizada/madurada de la presente invención. Esta molécula de anticuerpo además se puede modificar según esta invención, por ejemplo, en forma de clonación cruzada, véase más adelante en el presente documento y los ejemplos adjuntos.

Tal como se documenta en los ejemplos adjuntos, los anticuerpos de la invención también comprenden anticuerpos de clonación cruzada, es decir, anticuerpos que comprenden diferentes regiones de anticuerpo (por ejemplo, regiones CDR) de uno o más anticuerpos parentales u optimizados por afinidad como se describen en el presente documento. Estos anticuerpos de clonación cruzada pueden ser anticuerpos en diversas regiones estructurales diferentes, por lo cual la región estructural más preferida es una región estructural de IgG, incluso más preferidos es una región estructural de IgG1, IgG2a o IgG2b. Particularmente se prefiere que dicha región estructural de anticuerpo sea una región estructural de mamífero, lo más preferentemente una humana. Los dominios en las cadenas ligeras y pesadas tienen la misma estructura general y cada dominio comprende cuatro regiones estructurales, cuyas secuencias están relativamente conservadas, juntadas por tres dominios hipervariables conocidos como regiones determinantes de complementariedad (CDR1-3).

Tal como se usa en el presente documento, una "región estructural humana" se refiere a una región estructural que es básicamente idéntica (aproximadamente 85 % o más, normalmente 90-95 % o más) a la región estructural de una inmunoglobulina humana que se da de manera natural. La región estructural de un anticuerpo, que son las regiones estructurales combinadas de las cadenas ligeras y pesadas constituyentes, sirve para colocar y alinear las CDRs. Las CDRs son responsables principales de la unión a un epítipo de un antígeno. Cabe señalar que no solamente los anticuerpos de clonación cruzada descritos en el presente documento pueden estar presentes en una región estructural de anticuerpo preferida (humana), sino también las moléculas de anticuerpo que comprenden CDRs de, entre otros, los anticuerpos parentales MSR-3, -7 u -8 como se describe en el presente documento o de los anticuerpos madurados derivados de dichos anticuerpos parentales, pueden estar introducidos en una región estructural de inmunoglobulina. Las regiones estructurales preferidas son IgG1, IgG2a e IgG2b. Las más preferidas son las regiones estructurales humanas y las regiones estructurales de IgG1 humanas.

Tal como se muestra en los ejemplos adjuntos es posible, entre otros, transferir, por ingeniería genética conocida en la técnica, cadenas ligeras totales desde un clon donante optimizado a un clon receptor optimizado. Ejemplo de un clon donante optimizado es, por ejemplo, L-CDR1 (L1) y un ejemplo de un clon recipiente optimizado es H-CDR2 (H2). La especificidad de epítipo se puede conservar combinando clones que poseen las mismas regiones H-CDR3. Detalles adicionales se dan en el Ejemplo ilustrativo 13.

Moléculas de anticuerpo de clonación cruzada se pueden seleccionar entre el grupo que consiste en MS-R N°3.3H1x3.4L9, MS-R N°3.4H1x3.4L9, MS-R N°3.4H3x3.4L7, MS-R N°3.4H3x3.4L9, MS-R N°3.4H7x3.4L9, MS-R N°3.4H7x3.4L7, MS-R N°3.6H5x3.6L1, MS-R N°3.6H5x3.6L2, MS-R N°3.6H8x3.6L2, MS-R N°7.2H2x7.2L1, MS-R N°7.4H2x7.2L1, MS-R N°7.4H2x7.12L2, MS-R N°7.9H2x7.2L1(L1), MS-R N°7.9H2x7.12L1, MS-R N°7.9H2x7.12L2, MS-R N°7.9H2x7.12L2(L1+2), MS-R N°7.9H4x7.12L2, MS-R N°7.11H1x7.2L1, MS-R N°7.11H1x7.11L1, MS-R

N^o7.11H2x7.2L1(L1), MS-R N^o7.11H2x7.9L1(L1). MS-R N^o7.11H2x7.12L o MS-R N^o8.1H1x8.2L1.

La generación de anticuerpos de clonación cruzada también se ilustra en los ejemplos adjuntos. Los anticuerpos/moléculas de anticuerpo de clonación cruzada preferidos anteriormente mencionados son moléculas de anticuerpo optimizadas/maduradas derivadas de anticuerpos parentales descritos en el presente documento, en particular de MSR-3 y MSR-7. Además, se dan secuencias de CDR y regiones V características adicionales de los anticuerpos/moléculas de anticuerpo de clonación cruzada en las SEQ ID NOs adjuntas: 32, 33, 46 y 47 (MSR 3.6H5x3.6L2; regiones VH, VL); 34, 35, 48 y 49 (MSR 3.6H8x3.6L2; regiones VH, VL); 36, 37, 50 y 51 (MSR 7.4H2x7.2L1; regiones VH, VL); 38, 39, 52 y 53 (MSR N^o7.9H2x7.12L12; regiones VH, VL); 40, 41, 54 y 55 (MSR N^o7.9H4x7.12L2; regiones VH, VL); 42, 43, 56 y 57 (MS-R N^o7.11H1x7.11L1; regiones VH, VL); y 44, 45, 58 y 59 (MSR N^o7.11H1x7.2L1; regiones VH, VL). Regiones CDR3 correspondientes de estas moléculas de anticuerpo de clonación cruzada preferidas particulares se representan en SEQ ID NOs: 60 a 87. Para moléculas de anticuerpo MSR adicionales, se pueden deducir regiones VH, VL, CDR de las Tablas adjuntas 8 o 10 y del listado de secuencia adjunto, en particular SEQ ID NOs: 32 a 95 para los anticuerpos/moléculas de anticuerpo MS-R N^o3.6H5x3.6L2, N^o3.6H8x3.6L2, N^o7.4H2x7.2L1, N^o7.9H2x7.12L2, N^o7.9H4x7.12L2, N^o7.11H1x7.11L1, N^o7.11H1x7.2L1 y N^o7.9H7 o SEQ ID NOs: 294 a 413 para anticuerpos MSR-R/moléculas de anticuerpo MS-R N^o3.3H1x3.4L9, N^o3.4H1x3.4L9, N^o3.4H3x3.4L7, N^o3.4H3x3.4L9, N^o3.4H7x3.4L9, N^o3.4H7x3.4L7, N^o3.6H5x3.6L1, N^o7.2H2x7.2L1, N^o7.4H2x7.12L2, N^o7.9H2x7.2L1, N^o7.9H2x7.12L1, N^o7.11H2x7.2L1, N^o7.11H2x7.9L1, N^o7.11H2x7.12L1 o N^o8.1H1x8.2L1. Por consiguiente, aparte de las regiones VH anteriormente definidas, las moléculas de anticuerpo preferidas de la descripción pueden comprender regiones VH como se definen en una cualquiera de SEQ ID NOs: 294 a 323. Igualmente, SEQ ID NOs: 324 a 353 representan regiones VL preferidas que, aparte de las regiones VL anteriormente definidas que pueden estar comprendidas en la molécula de anticuerpo como se describe en el presente documento. Regiones CDR-3 correspondientes se definieron anteriormente, así como en secuencias adicionales mostradas en SEQ ID NOs: 354 a 413. La molécula de anticuerpo de la invención fácilmente se puede producir en cantidades suficientes, entre otros, por métodos recombinantes conocidos en la técnica, véase, por ejemplo, Bentley, *Hybridoma* 17 (1998), 559-567; Racher, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 40 (1994), 851-856; Samuelsson, *Eur. J. Immunol.* 26 (1996), 3.029-3.034.

Teóricamente, en β -A4 soluble (monomérico/oligomérico) tanto los epítomos N-terminales como los medios son accesibles para la interacción de anticuerpo y las moléculas de anticuerpo de la presente invención pueden o bien unirse al epítomo N-terminal o al medio por separado, pero bajo estas condiciones no se obtendrá la afinidad máxima. Sin embargo, es más probable que se consiga un contacto óptimo al paratopo de anticuerpo por unión simultánea a ambos epítomos, es decir, similar a la interacción con β -A4 agregado. Por tanto, los anticuerpos de la presente invención son anticuerpos anti-A β únicos de manera que se unen a β -A4 agregado (mediante la interacción con el epítomo N-terminal y medio), y a la vez también son capaces de estabilizar y neutralizar el epítomo conformacional en β -A4 soluble. Estos anticuerpos son diferentes a los anticuerpos de la técnica anterior.

Las más preferidas son moléculas de anticuerpo de la invención que tienen una afinidad a A β o sus fragmentos definidos con un valor K_D menor de 2.000 nM, preferentemente menor de 100 nM, más preferentemente menor de 10 nM, lo más preferentemente menor de 1 nM. La medición de tal afinidad o afinidades se puede llevar a cabo por métodos ilustrados en los ejemplos y conocidos en la técnica. Tales métodos comprenden, pero no se limitan a, ensayos de BIACORET[™] (www.biocore.com; Malmquist (1999), *Biochem. Soc. Trans* 27, 335-340) y ensayos en fase sólida que usan anticuerpos marcados o A β marcado.

Preferentemente, la molécula de anticuerpo de la invención es capaz de decorar/reaccionar con/unirse a placas de amiloide en secciones de cerebro *in vitro* (post-mortem) de pacientes que padecían de trastornos relacionados con amiloide, como la enfermedad de Alzheimer. Aún, también se prefiere que el anticuerpo/moléculas de anticuerpo de la invención prevengan la agregación de A β *in vivo*, así como en ensayos *in vitro*, tal como se ilustra en los ejemplos adjuntos. Igualmente, las moléculas de anticuerpo de la presente invención son preferidas para despolimerizar el agregado de A β en ensayos *in vivo* y/o *in vitro* mostrados en los ejemplos. Esta capacidad de los anticuerpos/moléculas de anticuerpo de la invención es, entre otros, para emplearse en marcos médicos, en particular en composiciones farmacéuticas descritas más adelante en el presente documento.

La invención también proporciona una molécula de ácidos nucleicos que codifica una molécula de anticuerpo de la invención como se define en el presente documento.

Dicha molécula de ácidos nucleicos puede ser una molécula de ácidos nucleicos que se da de manera natural, así como una molécula de ácidos nucleicos recombinante. Por lo tanto, la molécula de ácidos nucleicos de la invención puede ser de origen natural, sintético o semisintético. Puede comprender ADN, ARN, así como APN y puede ser un híbrido de los mismos.

Es evidente para un experto en la técnica que las secuencias reguladoras se pueden añadir a la molécula de ácidos nucleicos de la invención. Por ejemplo, se pueden emplear promotores, potenciadores transcripcionales y/o secuencias que permiten la expresión inducida del polinucleótido de la invención. Un sistema inducible adecuado es, por ejemplo, la expresión génica regulada por tetraciclina como se describe, por ejemplo, por Gossen y Bujard (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89 (1992), 5.547-5.551) y Gossen y col., (*Trends Biotech.* 12 (1994), 58-62), o un sistema de

expresión de gen inducible por dexametasona como se describe, por ejemplo, por Crook (1989) *EMBO J.* 8, 513-519.

5 Además, se prevé para propósitos adicionales que la molécula de ácidos nucleicos puede contener, por ejemplo, enlaces tioéster y/o análogos de nucleótidos. Dichas modificaciones pueden ser útiles para la estabilización de la molécula de ácidos nucleicos frente a endo y/o exonucleasas en la célula. Dichas moléculas de ácidos nucleicos se pueden transcribir mediante un vector apropiado que contiene un gen quimérico que permite la transcripción de dicha molécula de ácidos nucleicos en la célula. A este respecto, también se entiende que el polinucleótido de la invención se puede usar para planteamientos "terapéuticos génicos" o "de diana génica". En otra realización dichas moléculas de ácidos nucleicos están marcadas. Los métodos para la detección de los ácidos nucleicos son bien conocidos en la técnica, por ejemplo, transferencia tipo Southern y Northern, PCR o extensión de cebador. Esta realización puede ser útil para los métodos de cribado para verificar la introducción con éxito de las moléculas de ácidos nucleicos de la invención durante los planteamientos de terapia génica.

15 La(s) molécula(s) de ácidos nucleicos de la invención puede(n) ser una molécula de ácidos nucleicos química producida de manera recombinante que comprende alguna de las moléculas de ácidos nucleicos anteriormente mencionadas o bien sola o en combinación. Preferentemente, la molécula de ácidos nucleicos de la invención es parte de un vector.

20 Por lo tanto, la presente invención se refiere a un vector que comprende la molécula de ácidos nucleicos de la presente invención.

El vector de la presente invención puede ser, por ejemplo, un plásmido, cósmido, virus, bacteriófago u otro vector usado, por ejemplo, de manera convencional en ingeniería genética, y puede comprender además genes tales como genes marcadores que permiten la selección de dicho vector en una célula hospedadora adecuada y bajo condiciones adecuadas.

25 Además, el vector de la presente invención puede comprender, además de las secuencias de ácidos nucleicos de la invención, elementos control de la expresión, que permiten la expresión apropiada de las regiones codificadoras en hospedantes adecuados. Tales elementos control son conocidos por los expertos y pueden incluir un promotor, un casete de corte y empalme, codón de iniciación de la traducción, sitio de traducción e inserción para introducir un inserto en el vector. Preferentemente, la molécula de ácidos nucleicos de la invención está operativamente ligada a dichas secuencias de control de la expresión que permiten la expresión en células eucariotas o procariotas.

Elementos control que aseguran la expresión en células eucariotas y procariotas son bien conocidos por los expertos en la técnica. Tal como se mencionó anteriormente en el presente documento, normalmente comprenden secuencias reguladoras que aseguran la iniciación de la transcripción y opcionalmente señales poli-A que aseguran la terminación de la transcripción y la estabilización del transcrito. Elementos reguladores adicionales pueden incluir potenciadores transcripcionales, así como de traducción, y/o regiones promotor naturalmente asociadas o heterólogas. Posibles elementos reguladores que permiten la expresión en, por ejemplo, células hospedantes de mamífero comprenden el promotor de timidina quinasa de CMV-HSV, SV40, promotor RSV (Virus del sarcoma de Rous), promotor del factor 1 α de elongación humano, el promotor de MMTV inducible por glucocorticoide (Virus del Tumor de Ratón de Moloney), promotores inducibles por metalotioneína o tetraciclina, o potenciadores, como potenciados de CMV o potenciador de SV40. Para la expresión en células neurales, se prevé que se pueden emplear promotores de neurofilamento, PGDF, NSE, PrP o thy-1. Dichos promotores se conocen bien en la técnica y, entre otros, están descritos en Charron (1995), *J. Biol. Chem.* 270, 25.739-25.745. Para la expresión en células procariotas, se han descrito una multitud de promotores que incluyen, por ejemplo, el promotor tac-lac o el promotor de trp. Aparte de los elementos que son responsables de la iniciación de la transcripción tales elementos reguladores también pueden comprender señales de terminación de transcripción, tales como el sitio poli-A de SV40 o el sitio poli-A de tk, en dirección 3' del polinucleótido. En este contexto, los vectores de expresión adecuados se conocen en la técnica tal como el vector de expresión de ADNc de Okayama-Berg pcDV1 (Farmacia), pRc/CMV, pcDNA1, pcDNA3 (Invitrogene), pSPORT1 (GIBCO BRL), pX (Pagano (1992) *Science* 255, 1.144-1.147), dos vectores híbridos de levadura, tales como pEG202 y dpJG4-5 (Gyuris (1995) *Cell* 75, 791-803), o vectores de expresión procariota, tales como lambda gt11 o pGEX (Amersham-Farmacia). Aparte de las moléculas de ácidos nucleicos de la presente invención, el vector puede además comprender secuencias de ácidos nucleicos que codifican las señales de secreción. Tales secuencias son bien conocidas por los expertos en la técnica. Además, dependiendo del sistema de expresión usado se pueden añadir secuencias líder capaces de dirigir los péptidos de la invención a un compartimento celular a la secuencia codificadora de las moléculas de ácidos nucleicos de la invención y son bien conocidas en la técnica. La(s) secuencia(s) líder se ensamblan(n) en la fase apropiada con secuencias de traducción, iniciación y terminación, y preferentemente, una secuencia líder capaz de dirigir la secreción de la proteína traducida, o una proteína de la misma, dentro del espacio periplásmico o medio extracelular.

60 Opcionalmente, la secuencia heteróloga puede codificar una proteína de fusión que incluya un péptido de identificación C-terminal o N-terminal que imparte las características deseadas, por ejemplo, estabilización o purificación simplificada del producto recombinante expresado. Una vez que el vector se ha incorporado dentro del hospedador apropiado, el hospedador se mantiene bajo condiciones adecuadas para alto nivel de expresión de las secuencias de nucleótidos, y, como si se desea, puede seguir la colección y purificación de las moléculas de anticuerpo o fragmentos de las mismas de la invención. Por consiguiente, la invención también se refiere a hospedantes/células hospedantes que comprenden un vector como se define en el presente documento. Tales

hospedantes pueden ser útiles para en los procesos obtener anticuerpos/moléculas de anticuerpos de la invención, así como en marcos médicos/farmacéuticos. Tales células hospedantes también pueden comprender células neuronales sometidas a transducción o a transfección, como células madre neuronales, preferentemente células madre neuronales adultas. Tales células hospedantes pueden ser útiles en terapias de trasplante.

5 Además, el vector de la presente invención también puede ser una expresión, un vector de transferencia génica o de diana génica. La terapia génica, que se basa en la introducción de genes terapéuticos dentro de células por técnicas *ex vivo* o *in vivo* es una de las aplicaciones más importantes de la transferencia génica. Los ratones transgénicos que expresan un anticuerpo neutralizante dirigido al factor de crecimiento de nervio se han generado usando la técnica de "neuroanticuerpo"; Capsoni, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97 (2000), 6.826-6.831 y Biocca, *Embo J.* 9 (1990), 101-108. Vectores, métodos o sistemas de liberación de gen adecuados para la terapia génica *in vitro* o *in vivo* están descritos en la bibliografía y son conocidos por los expertos en la técnica; véase, por ejemplo, Giordano, *Nature Medicine* 2 (1996), 534-539; Schaper, *Circ. Res.* 79 (1996), 911-919; Anderson, *Science* 256 (1992), 808-813; Isner, *Lancet* 348 (1996), 370-374; Muhlhauser, *Cir. Res.* 77 (1995), 1.077-1.086; Onodua, *Blood* 91 (1998), 30-36; Verzeletti, *Hum. Gene Ther.* 9 (1998), 2.243-2.251; Verma, *Nature* 389 (1997), 239-242; Anderson, *Nature* 392 (sup. 1998), 25-30; Wang, *Gene Therapy* 4 (1997), 393-400; Wang, *Nature Medicine* 2 (1996), 714-716; documentos WO 94/29469; WO 97/00957; US 5.580.859; US 5.589.466; US 4.394.448 o Schaper, *Current Opinion in Biotechnology* 7 (1996), 635-640, y referencias citadas en el presente documento. En particular, dichos sistemas de liberación de genes y/o vectores también están descritos en los planteamientos de terapia génica en tejido/células 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65

neuroológicas (véase, entre otros, Blömer, *J. Virology* 71 (1997) 6.641-6.649) o en el hipotálamo (véase, entre otros, Geddes, *Front Neuroendocrinol.* 20 (1999), 296-316 o Geddes, *Nat. Med.* 3 (1997), 1.402-1.404). Adicionales construcciones de terapia génica adecuadas para su uso en células/tejidos neurológicos son conocidos en la técnica, por ejemplo, en Meier (1999), *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 58, 1.099-1.110. Las moléculas de ácidos nucleicos y los vectores de la invención pueden estar diseñados para la introducción directa o para introducción por liposomas, vectores víricos (por ejemplo, adenovirales, retrovirales), electroporación, balísticos (por ejemplo, pistola de gen) u otros sistemas de liberación en las células. Además, se puede usar un sistema baculoviral como sistema de expresión eucariota para las moléculas de ácidos nucleicos de la invención. La introducción y el planteamiento terapéutico génico debería, preferentemente, conducir a la expresión de una molécula de anticuerpo funcional de la invención, por lo cual dicha molécula de anticuerpo expresada es particularmente útil en el tratamiento, mejoramiento y/o prevención de trastornos neurológicos relacionados con síntesis anormal de amiloide, ensamblaje y/o agregación, como, la enfermedad de Alzheimer y similares.

Por consiguiente, la molécula de ácidos nucleicos de la presente invención y/o los vectores/hospedantes anteriormente descritos de la presente invención pueden ser particularmente útiles como composiciones farmacéuticas. Dichas composiciones farmacéuticas se pueden emplear en planteamientos de terapia génica. En este contexto, se prevé que las moléculas de ácidos nucleicos y/o vectores de la presente invención se pueden emplear para modular, alterar y/o modificar la expresión (celular) y/o concentración de las moléculas de anticuerpo de la invención o de un fragmento(s) de las mismas.

Para aplicaciones de terapia génica, los ácidos nucleicos que codifican el(los) péptido(s) de la invención o fragmentos de los mismos se pueden clonar dentro de un sistema de liberación de gen, tal como un virus y el virus usado para la infección y confiriendo mejoramiento de la enfermedad o efectos de curación en las células infectadas u organismo.

La presente invención también se refiere a una célula hospedadora sometida a transfección o transformada con el vector de la invención o un hospedador no humano que porta el vector de la presente invención, es decir, a una célula hospedadora u hospedadora que está genéticamente modificada con una molécula de ácidos nucleicos según la invención o con un vector que comprende tal molécula de ácidos nucleicos. El término "genéticamente modificado" significa que la célula hospedadora o el hospedador comprende además de su genoma natural una molécula de ácidos nucleicos o vector según la invención que se introduce en la célula u hospedador o en uno sus predecesores/padres. La molécula de ácidos nucleicos o vector puede estar presente en la célula hospedadora genéticamente modificada u hospedador o bien como molécula independiente fuera del genoma, preferentemente como molécula que es capaz de replicación, o puede estar establemente integrada en el genoma de la célula hospedadora u hospedador.

La célula hospedadora de la presente invención puede ser cualquier célula procariota o eucariota. Las células procariotas adecuadas son aquellas generalmente usadas para clonar como *E. coli* o *Bacillus subtilis*. Además, las células eucariotas comprenden, por ejemplo, células fúngicas o animales. Ejemplos de células fúngicas adecuadas son células de levadura, preferentemente aquellas del género *Saccharomyces* y lo más preferentemente aquellas de la especie *Saccharomyces cerevisiae*. Células animales adecuadas son, por ejemplo, células de insecto, células de vertebrados, preferentemente células de mamífero, tales como, por ejemplo, HEK293, NSO, CHO, MDCK, U2-OS, HeLa, NIH3T3, MOLT-4, Jurkat, PC-12, PC-3, IMR, NT2N, Sk-n-sh, CaSki, C33A. Estas células hospedantes, por ejemplo, células CHO, pueden proporcionar modificaciones post-traducción a las moléculas de anticuerpo de la invención, incluyendo la separación del péptido líder, pliegue y ensamble de cadenas H (pesadas) y L (ligeras), glicosilación de la molécula en lados correctos y secreción de la molécula funcional. Líneas celulares adicionales adecuadas conocidas en la técnica son obtenibles de los depósitos de línea celular, como "The American Type

Culture Collection" (ATCC). Según la presente invención, además se prevé que las células/cultivos celulares primarios pueden funcionar como células hospedantes. Dichas células en particular están derivadas de insectos (como insectos de las especies de *Drosophila* o *Blatta*) o mamíferos (como humanos, marranos, ratón o rata). Dichas células hospedantes también pueden comprender células de y/o derivadas de líneas celulares como líneas celulares de neuroblastoma. Las células primarias anteriormente mencionadas son bien conocidas en la técnica y comprenden, entre otras, astrocitos primarios, cultivos espinales (mezclados) o cultivos de hipocampo.

En una realización preferida la célula hospedadora que está transformada con el vector de la invención es una célula neuronal, una célula madre neuronal (por ejemplo, una célula madre neuronal adulta), una célula de cerebro o una célula (línea) derivada de las mismas. Sin embargo, también una célula CHO que comprende la molécula de ácidos nucleicos de la presente invención puede ser particularmente útil como hospedador. Tales células pueden proporcionar modificaciones secundarias correctas en las moléculas expresadas, es decir, las moléculas de anticuerpo de la presente invención. Estas modificaciones comprenden, entre otros, glicosilaciones y fosforilaciones.

Los hospedantes pueden ser mamíferos no humanos, lo más preferentemente ratones, ratas, oveja, terneros, perros, monos o simios. Dichos mamíferos pueden ser indispensables para el desarrollo de una cura, preferentemente una cura para trastornos neurológicos y/o neurodegenerativos mencionados en el presente documento. Además, los hospedantes de la presente invención pueden ser particularmente útiles en la producción de las moléculas de anticuerpo (o fragmentos de las mismas) de la invención. Se prevé que dichas moléculas de anticuerpo (o fragmentos de las mismas) se aíslan de dicho hospedador. Se prevé, entre otros, que las moléculas de ácidos nucleicos y/o vectores descritos en el presente documento se incorporan en secuencias para la expresión transgénica. La introducción de las moléculas de ácidos nucleicos de la invención como transgenes dentro de los hospedantes no humanos y su posterior expresión se puede emplear para la producción de los anticuerpos de la invención. Por ejemplo, la expresión de tal(es) transgen(es) en la leche del animal transgénico proporciona medios para obtener la molécula de anticuerpo de la invención en cantidades cuantitativas; véase, entre otros, los documentos US 5.741.957, US 5.304.489 o US 5.849.992. Transgenes útiles a este respecto comprenden las moléculas de ácidos nucleicos de la invención, por ejemplo, secuencias codificadoras para las cadenas ligeras y pesadas de las moléculas de anticuerpo descritas en el presente documento, operativamente ligadas al promotor y/o estructuras potenciadoras de un gen específico de glándula mamaria, como caseína o beta-lactoglobulina.

La invención también proporciona un método para la preparación de una molécula de anticuerpo de la invención que comprende el cultivo de la célula hospedadora anteriormente descrita en el presente documento bajo condiciones que permiten la síntesis de dicha molécula de anticuerpo y la recuperación de dicha molécula de anticuerpo de dicho cultivo.

La invención también se refiere a una composición que comprende una molécula de anticuerpo de la invención o producida por el método anteriormente descrito, una molécula de ácidos nucleicos que codifica la molécula de anticuerpo de la invención, un vector que comprende dicha molécula de ácidos nucleicos o una célula hospedadora como se definió anteriormente y opcionalmente, moléculas adicionales, o bien solas o en combinación, como, por ejemplo, moléculas que son capaces de interferir con la formación de placas de amiloide o que son capaces de despolimerizar placas de amiloide ya formadas. El término "composición" tal como se emplea en el presente documento comprende al menos un compuesto de la invención. Preferentemente, tal composición es una composición farmacéutica o una composición de diagnóstico.

La composición puede estar en forma sólida o líquida y puede estar, entre otras, en una forma de polvo(s), comprimido(s), solución(es) o aerosol(es). Dicha composición puede comprender uno o más anticuerpos/moléculas de anticuerpo de la invención o moléculas de ácidos nucleicos, vector u hospedantes de la invención. También se prevé que dicha composición comprenda al menos dos, preferentemente tres, más preferentemente, cuatro, lo más preferentemente cinco moléculas de anticuerpo de la invención o molécula(s) de ácidos nucleicos que codifica(n) dicha(s) molécula(s) de anticuerpo. Dicha composición también puede comprender anticuerpos/moléculas de anticuerpo de la invención optimizadas obtenibles por los métodos descritos más adelante en el presente documento y en los ejemplos adjuntos.

Se prefiere que dicha composición farmacéutica, opcionalmente comprenda un vehículo farmacéuticamente aceptable y/o diluyente. La composición farmacéutica descrita en el presente documento puede ser particularmente útil para el tratamiento de trastornos neurológicos y/o neurodegenerativos. Dichos trastornos comprenden, pero no se limitan a, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis tipo holandés, síndrome de Down, demencia por VIH, enfermedad de Parkinson y trastornos neuronales relacionados con la vejez. La composición farmacéutica de la invención se prevé, entre otros, como inhibidores potentes de la formación de placa de amiloide o como un estimulador potente para la despolimerización de placas de amiloide. Por lo tanto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de la invención a usar para el tratamiento de enfermedades/trastornos asociados con proteólisis patológica de APP y/o formación de placa de amiloide.

Ejemplos de vehículos, excipientes y/o diluyentes farmacéuticamente adecuados son bien conocidos en la técnica e incluyen soluciones salinas taponadas, agua, emulsiones, tales como emulsiones de aceite/agua, diversos tipos de

agentes humectantes, soluciones estériles, etc. Las composiciones que comprenden tales vehículos se pueden formular por métodos convencionales bien conocidos. Estas composiciones farmacéuticas se pueden administrar al sujeto a una dosis adecuada. La administración de las composiciones adecuadas se puede efectuar por diferentes medios, por ejemplo, administración intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, tópica, intradérmica, intranasal o intrabronquial. Particularmente se prefiere que dicha administración se lleve a cabo por inyección y/o reparto, por ejemplo, a un sitio en la arteria cerebral o directamente en el tejido cerebral. Las composiciones de la invención también se pueden administrar directamente al sitio diana, por ejemplo, por reparto biolístico a un sitio diana externo o interno, como el cerebro. El régimen de dosificación se determinará por el médico que atiende y los factores clínicos. Tal como se sabe bien en las técnicas médicas, las dosificaciones para un paciente cualquiera depende de muchos factores, incluyendo el tamaño del paciente, el área superficial corporal, la edad, el compuesto particular a administrar, el sexo, el tiempo y la vía de administración, la salud general, y otros fármacos que se administran al mismo tiempo. La materia farmacéuticamente activa proteínica puede estar presente en cantidades entre 1 ng y 10 mg/kg de peso corporal por dosis; sin embargo, se conciben dosis por encima o por debajo de este intervalo de ejemplo, considerando especialmente los factores anteriormente mencionados. Si el régimen es una infusión continua, también debería estar en el intervalo de 1 µg a 10 mg de unidades por kilogramos de peso corporal por minuto. El progreso se puede controlar por valoración periódica. Las composiciones de la invención se pueden administrar local o sistémicamente. Cabe señalar que los anticuerpos periféricamente administrados pueden entrar al sistema nervioso central, véase, entre otros, Bard (2000), *Nature Med.* 6, 916-919. Preparaciones para la administración parenteral incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones estériles acuosas o no acuosas. Ejemplos de disolventes no acuosos son propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. Vehículos acuosos incluyen agua, soluciones alcohólicas/acuosas, emulsiones o suspensiones, incluyendo medios salinos y tamponados. Vehiculizantes parenterales incluyen solución de cloruro de sodio, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro de sodio, Ringer lactado, o aceites fijados. Vehiculizantes intravenosos incluyen rellenanates fluidos y nutrientes, rellenanates de electrolito (tales como los basados en dextrosa de Ringer) y similares. También pueden estar presentes conservantes y otros aditivos tales como, por ejemplo, agentes antimicrobianos, antioxidantes, quelantes y gases inertes y similares. Además, la composición farmacéutica de la invención además puede comprender agentes adicionales dependiendo del uso previsto de la composición farmacéutica. Dichos agentes pueden ser fármacos que actúan sobre el sistema nervioso central, como, factores neuroprotectores, inhibidores de colinesterasa, agonistas del receptor muscarínico M1, hormonas, antioxidantes, inhibidores de inflamación, etc. Particularmente se prefiere que dicha composición farmacéutica comprenda agentes adicionales como, por ejemplo, neurotransmisores y/o moléculas de sustitución para neurotransmisores, vitamina E o ácido alfa-lipoico.

Las composiciones farmacéuticas, así como los métodos de la invención o los usos de la invención descritos más adelante se pueden usar para el tratamiento de todo tipo de enfermedades hasta hora desconocidas o que están relacionadas con o dependen de agregación patológica de APP o procesamiento patológico de APP. Pueden ser particularmente útiles para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades en las que los depósitos extracelulares de amiloide-β, parecen jugar un papel. Deseablemente se puede emplear en humanos, aunque el tratamiento animal también abarca los métodos, usos y composiciones descritos en el presente documento.

En una realización preferida de la invención, la composición de la presente invención como se describió anteriormente en el presente documento es una composición de diagnóstico que comprende además, opcionalmente, medios adecuados para la detección. La composición de diagnóstico comprende al menos uno de los compuestos anteriormente mencionados de la invención.

Dicha composición de diagnóstico puede comprender los compuestos de la invención, en particular y preferentemente las moléculas de anticuerpo de la presente invención, en forma soluble/fase líquida, pero también se prevé que dichas composiciones están unidas a/acopladas a y/o ligadas a un soporte sólido.

Los soportes sólidos se pueden usar en combinación con la composición de diagnóstico como se define en el presente documento o los compuestos de la presente invención pueden estar directamente unidos a dichos soportes sólidos. Tales soportes son bien conocidos en la técnica y comprenden, entre otros, materiales de columna comercialmente disponibles, esferas de poliestireno, esferas de látex, esferas magnéticas, partículas coloidales de metal, pedacitos y superficies de cristal y/o silicona, tiras de nitrocelulosa, membranas, láminas, duracytes, pocillos y paredes de bandejas de reacción, tubos de plástico, etc. El(los) compuesto(s) de la invención, en particular los anticuerpos de la presente invención, pueden estar unidos a muchos vehículos diferentes. Ejemplos de vehículos bien conocidos incluyen, cristal, poliestireno, cloruro de polivinilo, polipropileno, polietileno, policarbonato, dextrano, nailon, amilosas, celulosas naturales y modificadas, poliácridamidas, agarosas y magnetita. La naturaleza del vehículo puede ser o bien soluble o insoluble para los propósitos de la invención. Las marcas y métodos apropiados para la marcación anteriormente se han identificado y además están mencionados más adelante en el presente documento. Se conocen bien los métodos adecuados para la fijación/inmovilización de dicho(s) compuesto(s) de la invención e incluyen, pero no se limitan a, interacciones iónicas, hidrófobas, covalentes y similares.

Particularmente se prefiere que la composición de diagnóstico de la invención se emplee para la detección y/o cuantificación de APP y/o productos del procesamiento de APP, como amiloide-β o para la detección y/o cuantificación de lados de escisión de APP patológicos y/o modificados (genéticamente).

Tal como se ilustra en los ejemplos adjuntos, los compuestos de la presente invención, en particular la molécula de anticuerpo de la invención es particularmente útil como reactivo de diagnóstico en la detección de placas de amiloide humas genuinas en secciones de cerebro de pacientes con la enfermedad de Alzheimer por inmunofluorescencia indirecta.

5 Se prefiere que dichos compuestos de la presente invención a emplear en una composición diagnóstica se marquen de manera detectable. Una diversidad de técnicas está disponible para la marcación de biomoléculas, son bien conocidas por los expertos en la técnica y se consideran que están dentro del alcance de la presente invención. Tales técnicas están descritas, por ejemplo, en Tijssen, "Practice and theory of enzyme immuno assays", Burden, 10 RH y von Knippenburg (Eds), Volumen 15 (1985), "Basic methods in molecular biology"; Davis LG, Dibmer MD; Battey Elsevier (1990), Mayer y col., (Eds) "Immunochemical methods in cell and molecular biology" Academic Press, Londres (1987), o en la serie "Methods in Enzymology", Academic Press, Inc.

15 Hay muchos marcadores y métodos de marcación diferentes conocidos por los expertos en la técnica. Ejemplos de los tipos de marcadores que se pueden usar en la presente invención incluyen enzimas, radioisótopos, metales coloidales, compuestos fluorescentes, compuestos quimioluminiscentes y compuestos bioluminiscentes.

Marcadores comúnmente usados comprenden, entre otros, fluorocromos (como fluoresceína, rodamina, Rojo Texas, etc.), enzimas (como peroxidasa de rábano, β -galactosidasa, fosfatasa alcalina), isótopos radioactivos (como ^{32}P o ^{125}I), biotina, digoxigenina, metales coloidales, compuestos químico o bioluminiscentes (como dioxetanos, luminol o acridinios). Procedimientos de marcación, como el acoplamiento covalente de enzimas o grupos de biotínulo, 20 iodinationes, fosforilaciones, biotilaciones, etc. son bien conocidos en la técnica.

Métodos de detección comprenden, pero no se limitan a, autorradiografía, microscopía de fluorescencia, reacciones 25 enzimáticas directas e indirectas, etc. Ensayos de detección comúnmente usados comprenden métodos radioisotópicos o no radioisotópicos. Estos comprenden, entre otros, transferencia tipo Western, ensayos de superposición, RIA (Radioinmunoensayo) e IRMA (Ensayo Radioinmuno métrico Inmune), EIA (Ensayo inmunoenzimático), ELISA (Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima), FIA (Ensayo Inmunofluorescente) y CLIA (Ensayo inmunoquimioluminiscente).

30 Además, la presente invención proporciona el uso de una molécula de anticuerpo de la invención, o una molécula de anticuerpo producida por el método de la invención, de una molécula de ácidos nucleicos, vector o un hospedador de la invención para la preparación de una composición farmacéutica o una composición de diagnóstico para la 35 prevención, tratamiento y/o diagnosis de una enfermedad asociada con amiloidogénesis y/o la formación de placa de amiloide. Además, se prefiere que los compuestos descritos en el presente documento, en particular las moléculas de anticuerpo de la invención, se empleen en la prevención y/o tratamiento de neuropatologías asociadas con el procesamiento modificado o anormal de APP y/o amiloidogénesis. Las moléculas de anticuerpo, por ejemplo, en formato de inmunoglobulinas (modificadas por ingeniería), como anticuerpos en una región estructural de IgG, en particular en una región estructural de IgG1, o en formato de anticuerpos quiméricos, anticuerpos biespecíficos, Fvs 40 de cadena simple (scFv) o scFvs biespecíficos y similares se emplean en la preparación de las composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento. Aún, las moléculas de anticuerpo también son útiles en marcos de diagnóstico como se documentan en los ejemplos adjuntos, puesto que las moléculas de anticuerpo de la invención interactúan específicamente con/detectan A β 4 y/o depósitos/placas de amiloide.

45 Por lo tanto, un uso de la invención de los compuestos de la presente invención es el uso para la preparación de una composición farmacéutica para un trastorno neurológico que requiere la mejora, por ejemplo, por desintegración de placas de β -amiloide, por aclaramiento de amiloide (placa) o por inmunización pasiva frente a la formación de placa de β -amiloide. Tal como se ilustra en los ejemplos adjuntos, las moléculas de anticuerpo de la invención son particularmente útiles en prevenir la agregación de A β y en la despolimerización de agregados de amiloide ya formados. Por consiguiente, los anticuerpos de la invención a emplear en la reducción de depósitos/placas de 50 amiloide patológicos, en el aclaramiento de placas/precursores de placa de amiloide, así como en la protección neuronal. En particular, se prevé que las moléculas de anticuerpo de la invención se emplean en la protección *in vivo* de placas de amiloide, así como en el aclaramiento *in vivo* de placas/depósitos de amiloide preexistentes. Además, las moléculas de anticuerpo de la invención se pueden emplear en planteamientos de inmunización pasivos frente a A β 4. El aclaramiento de depósitos de A β 4/A β 4 se puede conseguir, entre otros, mediante el uso médico de anticuerpos de la presente invención que comprenden una parte de Fc. Dicha parte de Fc de un anticuerpo 55 particularmente puede ser útil en respuestas inmunes mediadas por el receptor Fc, por ejemplo, la atracción de macrófagos (células fagocitas y/o microglia) y/o células ayudantes. Para la medición de inmunorespuestas relacionadas con la parte de Fc, la molécula de anticuerpo de la invención preferentemente está en una región estructural de IgG1 (humana). Tal como se discute en el presente documento, el sujeto preferido a tratar con la molécula de anticuerpo de la invención, las moléculas de ácidos nucleicos que codifican la misma o partes de las 60 mismas, los vectores de la invención o las células hospedantes de esta invención es un sujeto humano. También se prevén otras regiones estructurales, como las regiones estructurales de IgG2a o IgG2b para la molécula de anticuerpo de la invención. Particularmente se prevén regiones estructurales de inmunoglobulina en formato IgG2a e IgG2b en marcos de ratón, por ejemplo, en usos científicos de la molécula de anticuerpo de la invención, por 65 ejemplo, en ensayos en ratones transgénicos que expresan la APP tipo natural (humana) o mutada, fragmentos de APP y/o A β 4.

Las enfermedades anteriormente citadas asociadas con amiloidogénesis y/o formación de placa de amiloide comprenden, pero no se limitan a, enfermedad de Alzheimer, neuropatía motora, enfermedad de Parkinson, ELA (esclerosis lateral amiotrófica), tembladera, demencia relacionada con el VIH, así como la enfermedad de Creutzfeld-Jakob, hemorragia cerebral hereditaria, con amiloidosis tipo holandés, síndrome de Down y trastornos neuronales relacionados con la vejez. Las moléculas de anticuerpo de la invención y las composiciones proporcionadas en el presente documento también son útiles en la mejora y/o prevención de procesos inflamatorios que se relacionan con amiloidogénesis y/o formación de placa de amiloide.

Por consiguiente, en el presente documento también está descrito un método para tratar, prevenir y/o retrasar trastornos neurológicos y/o neurodegenerativos que comprenden la etapa de administrar a un sujeto que padece de dicho trastorno neurológico y/o neurodegenerativo y/o a un sujeto susceptible de dicho trastorno neurológico y/o neurodegenerativo una cantidad eficaz de la molécula de anticuerpo de la invención, la molécula de ácidos nucleicos de la invención y/o una composición como se definió anteriormente en el presente documento.

También se describe en el presente documento un kit que comprende al menos una molécula de anticuerpo, al menos una molécula de ácidos nucleicos, al menos un vector o al menos una célula hospedadora de la invención. Ventajosamente, el kit comprende, opcionalmente un tampón(tampones), soluciones de almacenamiento y/o reactivos restantes o materiales requeridos para la conducción de los ensayos y propósitos médicos, científicos o de diagnóstico. Además, las partes del kit se pueden empaquetar individualmente en viales o botellas o en combinación en recipientes o unidades de recipiente múltiple.

El kit se puede usar de manera ventajosa, entre otros, para llevar a cabo el método de la invención y se podría emplear en una diversidad de aplicaciones referidas en el presente documento, por ejemplo, como kits de diagnóstico, como herramientas de investigación o herramientas médicas. Además, el kit de la invención puede contener medios para la detección adecuada para propósitos científicos, médicos y/o de diagnóstico. La fabricación de los kits sigue preferentemente procedimientos estándar que son conocidos por los expertos en la técnica.

En el presente documento también se describe un método para la optimización de una molécula de anticuerpo como se definió anteriormente en el presente documento comprendiendo las etapas de:

- (a) construcción de una genoteca de fragmentos de anticuerpo Fab diversificados derivados de un anticuerpo que comprende al menos una CDR3 de una región VH codificada por una molécula de ácidos nucleicos como se muestra en SEQ ID NOs: 21, 23 o 25 o al menos una secuencia de aminoácidos de CDR3 de una región VH como se muestra en SEQ ID NOs: 22, 24 o 26.
- (b) ensayo de la genoteca de optimización de Fab resultante por inmunoadsorción (panning) frente a A β /A β 4;
- (c) identificación de clones optimizados; y
- (d) expresión de clones optimizados y seleccionados.

La optimización de los anticuerpos/moléculas de anticuerpo como se describe en el presente documento también está documentada en los ejemplos adjuntos y puede comprender la selección por, por ejemplo, afinidad superior para una o ambas regiones/epítomos de β -A4 como se define en el presente documento o la selección por expresión mejorada y similares. En una realización, dicha selección por afinidad superior por una o ambas regiones/epítomos de β -A4 comprende la selección por alta afinidad a (a) un tramo de aminoácidos que comprende aminoácidos 2 a 10 (o una parte(s) del mismo) de β -A4 y/o (b) un tramo de aminoácidos que comprende aminoácidos 12 a 25 (o una parte(s) del mismo) de β -A4 (SEQ ID NO: 27).

El experto en la técnica fácilmente puede llevar a cabo el método que emplea las enseñanzas de la presente invención. Los protocolos de optimización para anticuerpos son bien conocidos en la técnica. Estos protocolos de optimización comprenden, entre otros, mutagénesis dirigida por CDR como se describe e ilustra en el presente documento y se describe en Yang (1995), *J. Mol. Biol.* 25, 392-403; Schier (1996), *J. Mol. Biol.* 263, 551-567; Barbas (1996), *Trends. Biotech* 14, 230-34 o Wu (1998) *PANS* 95, 6.037-6.042; Schier (1996), *Human Antibodies Hybridomas* 7, 97; Moore (1997), *J. Mol. Biol.* 272, 336.

Las técnicas de inmunoadsorción son bien conocidas en la técnica, véase, por ejemplo, Kay (1993), *Gene* 128, 59-65. Además, publicaciones como Borrebaeck (1995), "Antibody Engineering", Oxford University, 229-266; McCafferty (1996), "Antibody Engineering", Oxford University Press; Kay (1996), "A Laboratory Manual", Academic Press, proporcionan los protocolos de optimización que se pueden modificar según esta invención.

El método de optimización además puede comprender una etapa (ca), por la cual los clones optimizados se optimizan más por mutagénesis en casete, como se ilustra en los ejemplos adjuntos.

El método para la optimización de una molécula de anticuerpo descrita en el presente documento se ilustra más en los ejemplos adjuntos como maduración por afinidad de anticuerpos/moléculas de anticuerpo parentales capaces de reconocer específicamente dos regiones del péptido beta-A4/Abeta4/A β /A β 4/ β A4.

Preferentemente, dicho A β /A β 4 (también denominado como A β 4 en el contexto de esta invención) en la etapa (b) del método anteriormente descrito en el presente documento es A β /A β 4 agregado. Dicha inmunoadsorción se puede

llevar a cabo (tal como se describe en los ejemplos adjuntos) con severidad de unión aumentada. La severidad se puede incrementar, entre otros, reduciendo la concentración de A β /A β 4 o elevando la temperatura (ensayo). El ensayo de la genoteca optimizada por inmuoadsorción es conocido por los expertos en la técnica y está descrito en Kay (1993), loc. cit. Preferentemente, la identificación en la etapa (c) se lleva a cabo clasificando según los valores de K_D más bajos.

Lo más preferentemente, dicha identificación en la etapa (c) se lleva a cabo por clasificación por K_{off}. La clasificación por K_{off} es conocida por los expertos en la técnica y está descrita en Schier (1996), loc. cit.; Schier (1996), *J. Mol. Biol.* 255, 28-43 o Duenas (1996), *Mol. Immunol.* 33, 279-286. Además, la clasificación por K_{off} está ilustrada en los ejemplos adjuntos. La constante de índice off se puede medir como se describe en los ejemplos adjuntos.

Tal como se menciona en el presente documento, se pueden expresar los clones identificados para evaluación adicional. La expresión se puede llevar a cabo por métodos conocidos, entre otros, ilustrados en los ejemplos adjuntos. La expresión puede, entre otros, conducir a fragmentos Fab expresados, scFvs, inmunoglobulinas biespecíficas, moléculas de anticuerpo biespecífico, proteínas de fusión a Fab y/o Fv, o anticuerpos completos, como IgGs, en particular IgG1.

Anticuerpos optimizados, en particular Fabs optimizados o IgGs optimizados, preferentemente IgG1s, se pueden ensayar por métodos como los ilustrados en los ejemplos adjuntos. Tales métodos comprenden, pero no se limitan a, el ensayo de afinidades de unión, la determinación de los valores K_D, análisis pepspot, ensayos ELISA, ensayos RIA, ensayos CLIA, estudios (inmuno-) histológicos (por ejemplo, tinción de placas de amiloide), ensayos de despolimerización o fagocitosis de β -A4 dependiente de anticuerpo.

En el presente documento se describe un método en el que los anticuerpos optimizados se generan por clonación cruzada. Este método también se ilustra en los ejemplos adjuntos y comprende la etapa de combinar regiones CDR independientemente optimizadas, por ejemplo, combinando H-CDR2 y L-CDR2 independientemente optimizadas de clones maduros con H-CDR3, preferentemente el mismo H-CDR3.

También se describe un método para la precipitación de una composición farmacéutica que comprende las etapas de:

- (a) optimización de un anticuerpo según el método descrito en el presente documento e ilustrado en los ejemplos adjuntos; y
- (b) formulación del anticuerpo/molécula de anticuerpo optimizado con un vehículo fisiológicamente aceptable, como anteriormente se describió en el presente documento.

Por consiguiente, la invención también proporciona una composición farmacéutica preparada por el método descrito en el presente documento y que comprende además moléculas de anticuerpo optimizadas capaces de reconocer específicamente dos regiones del péptido beta-A4/Abeta4/A β / β A4, como se describió anteriormente en el presente documento.

Secuencias de ejemplo como se enumeran en el presente documento:

SEQ ID NO: 1
AEFRHDSGY
Primera región de péptido β -A4, "región/epítipo N-terminal"

SEQ ID NO: 2
VHHQKLVFFAEDVG
Segunda región de péptido β -A4, "región/epítipo central/medio"

SEQ ID NO: 3
Región VH de MS-Roche nº 3 (secuencia de ácidos nucleicos)
CAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGCGGCCTGGTGGCAACCGGGCGGCAGC
CTGCGTCTGAGCTGCGCGGCCTCCGGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAG
CTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGCGATTAGC
GGTAGCGGCGGCAGCACCTATTATGCGGATAGCGTGAAAGGCCGTTTTACCAT
TTCACGTGATAATTCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGC
GGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTCTTACTCATTATGCTCGTTATTA
TCGTTATTTTGGTGGTGGGCGCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCAGC
(SEQ ID NO : 3)

SEQ ID NO: 4
Región VH de MS-Roche nº 3 (secuencia de aminoácidos)

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGS
GGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLTHYARYRYF
DVWGGQGLTVTVSS (SEQ ID NO : 4)

SEQ ID NO: 5
Región VH de MS-Roche nº 7 (secuencia de ácidos nucleicos)

5

CAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGCGGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGC
CTGCGTCTGAGCTGCGCGGCCTCCGGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAG
CTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGCGATTAGC
GGTAGCGGCGGCAGCACCTATTATGCGGATAGCGTGAAAGGCCGTTTACCATT
TCACGTGATAATTCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCG
GAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTAAGGGTAATACTCATAAGCCT
TATGGTTATGTTTCGTTATTTTATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTT
AGCTCAGC (SEQ ID NO: 5)

SEQ ID NO: 6
Región VH de MS-Roche nº 7 (secuencia de aminoácidos)

10

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGS
GGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGKGNTHKPYGY
VRYFDVWGGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 6)

SEQ ID NO: 7
Región VH de MS-Roche nº 8 (secuencia de ácidos nucleicos)

15

CAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGCGGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGC
CTGCGTCTGAGCTGCGCGGCCTCCGGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAG
CTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGCGATTAGC
GGTAGCGGCGGCAGCACCTATTATGCGGATAGCGTGAAAGGCCGTTTTACCAT
TTCACGTGATAATTCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCG
GGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTCTTCTTTCTCGTGGTTATAATGG
TTATTATCATAAGTTTATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTC
AGC (SEQ ID NO: 7)

SEQ ID NO: 8
Región VH de MS-Roche nº 8 (secuencia de aminoácidos)

20

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGS
GGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLLSRGYNNGYYH
KFDVWGGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 8)

SEQ ID NO: 9
Región VL de MS-Roche nº 3 (secuencia de ácidos nucleicos)

25

GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAAC
GTGCGACCCTGAGCTGCAGAGCGAGCCAGAGCGTGAGCAGCAGCTATCTGGC
GTGGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACCGCGTCTATTAATTTATGGCGCGA
GCAGCCGTGCAACTGGGGTCCCAGCGCGTCTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCAC
GGATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGGTTTATA
TTGCCAGCAGGTTTATAATCCTCCTGTTACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGTTGA
AATTAACGTACG (SEQ ID NO: 9)

SEQ ID NO: 10
Región VL de MS-Roche nº 3 (secuencia de aminoácidos)

30

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA
TGVPARFSGSGSDFTLTISSELPEDFAVYYCQQVYNPPVTFGQGTKEIKRT
(SEQ ID NO: 10)

ES 2 590 684 T3

SEQ ID NO: 11
Región VL de MS-Roche nº 7 (secuencia de ácidos nucleicos)

GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAAC
GTGCGACCCTGAGCTGCAGAGCGAGCCAGAGCGTGAGCAGCAGCTATCTGGC

GTGGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACCGCGTCTATTAATTTATGGCGCGA
GCAGCCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGCGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCAC
GGATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGACTTATTA
TTGCTTTCAGCTTTATTCTGATCCTTTTACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGTTGAA
ATTAACGTACG (SEQ ID NO. 11)

5

SEQ ID NO: 12
Región VL de MS-Roche nº 7 (secuencia de aminoácidos)

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA
TGVPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFATYYCFQLYSDPFTFGQGTKVEIKRT
(SEQ ID NO : 12)

10

SEQ ID NO: 13
Región VL de MS-Roche nº 8 (secuencia de ácidos nucleicos)

GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAAC
GTGCGACCCTGAGCTGCAGAGCGAGCCAGAGCGTGAGCAGCAGCTATCTGGC
GTGGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACCGCGTCTATTAATTTATGGCGCGA
GCAGCCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGCGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCAC
GGATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGACTTATTA
TTGCCAGCAGCTTCTTCTTTTCTCCTACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGTTGA
AATTAACGTACG (SEQ ID NO: 13)

15

SEQ ID NO: 14
Región VL de MS-Roche nº 8 (secuencia de aminoácidos)

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA
TGVPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFATYYCQQLSSFPPFTFGQGTKVEIKRT
(SEQ ID NO : 14)

20

SEQ ID NO: 15
CDR3 de región VL de MSR-3 (secuencia de ácidos nucleicos)
CAGCAGGTTTATAATCCTCCTGTT (SEQ ID NO: 15)

25

SEQ ID NO: 16
CDR3 de región VL de MSR-3 (secuencia de aminoácidos)
QQVYNPPV (SEQ ID NO: 16)

30

SEQ ID NO: 17
CDR3 de región VL de MSR-7 (secuencia de ácidos nucleicos)
TTTCAGCTTTATTCTGATCCTTTT (SEQ ID NO: 17)

35

SEQ ID NO: 18
CDR3 de región VL de MSR-7 (secuencia de aminoácidos)
FQLYSDPF (SEQ ID NO: 18)

40

SEQ ID NO: 19
CDR3 de región VL de MSR-8 (secuencia de ácidos nucleicos)
CAG CAG CTT TCT TCT TTT CCT CCT (SEQ ID NO: 19)

SEQ ID NO: 20
CDR3 de región VL de MSR-8 (secuencia de aminoácidos)
QQLSSFPP (SEQ ID NO: 20)

ES 2 590 684 T3

- 5 SEQ ID NO: 21
CDR de región VH de MSR-3 (secuencia de ácidos nucleicos)
CTTACT CATTAT GCTCGTTATTAT CGTTATTTT GAT GTT (SEQ ID NO: 21)
- 10 SEQ ID NO: 22
CDR de región VH de MSR-3 (secuencia de aminoácidos)
LTHYARYRYFDV (SEQ ID NO: 22)
- 15 SEQ ID NO: 23
CDR de región VH de MSR-7 (secuencia de ácidos nucleicos)
GGT AAG GGT AAT ACT CAT AAG CCT TAT GGT TAT GTT CGT TAT TTT GAT GTT (SEQ ID NO: 23)
- 20 SEQ ID NO: 24
CDR de región VH de MSR-7 (secuencia de aminoácidos)
GKGNTHKPYGYVRYFDV (SEQ ID NO: 24)
- 25 SEQ ID NO: 25
CDR de región VH de MSR-8 (secuencia de ácidos nucleicos)
CTT CTT TCT CGT GGT TAT AAT GGT TAT TAT CAT AAG TTT GAT GTT (SEQ ID NO: 25)
- 30 SEQ ID NO: 26
CDR de región VH de MSR-8 (secuencia de aminoácidos)
LLSRGYNGYYHKFDV (SEQ ID NO: 26)
- 35 SEQ ID NO: 27 Aβ4 (aminoácidos 1 a 42)
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA (SEQ ID NO: 27)
- 40 SEQ ID NO: 28 cebador
5'-GTGGTGGTCCGATATC-3' (SEQ ID NO: 28)
- 45 SEQ ID NO: 29 cebador
5'-AGCGTCACACTCGGTGCGGCTTTCGGCTGGCCAAGAACGGTTA-3' (SEQ ID NO: 29)
- 50 SEQ ID NO: 30 cebador
5'-CAGGAAACAGCTATGAC-3' (SEQ ID NO: 30)
- SEQ ID NO: 31 cebador
5'-TACCGTTGCTCTTCACCCC-3' (SEQ ID NO: 31)
- SEQ ID NO: 32 VH de MS-Roche n°3.6H5x3.6L2; ADN; secuencia artificial
CAATTGGTGGAAAGCGGCGGCCTGGTGAACCGGGCGGCAGCCTGCGTC
TGAGCTGCGCGGCCTCCGGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTG
CGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGCTATTTCTGAGTCTG
GTAAGACTAAGTATTATGCTGATTCTGTTAAGGGTCTGTTTTACCATTTACGTGA
TAATTCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATAC
GGCCGTGATTATTGCGCGCGTCTTACTCATTATGCTCGTTATTATCGTTATTTT
GATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA (SEQ ID NO: 32)
- SEQ ID NO: 33: región VH de proteína de MS-Roche n°3.6H5x3.6L2; proteína/1; secuencia artificial
QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISESGK
TKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLTHYARYRYFDV
WGQGLTVVSS (SEQ ID NO: 33)
- SEQ ID NO: 34 región VH de MS-Roche n°3.6H8x3.6L2; ADN; secuencia artificial

CAATTGGTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGCGTC
TGAGCTGCGCGGCCTCCGGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTG
CGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGCTATTTCTGAGTATTC
TAAGTTAAGTATTATGCTGATTCTGTTAAGGGTCGTTTTACCATTTACGTGAT
AATTCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACG
GCCGTGTATTATTGCGCGCGTCTTACTCATTATGCTCGTTATTATCGTTATTTTG
ATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA (SEQ ID NO: 34)

SEQ ID NO: 35 región VH de proteína de MS-Roche nº3.6H8x3.6L2; proteína/1; secuencia artificial

QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISEYSK
FKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLTHYARYRYFDV
WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 35)

5

SEQ ID NO: 36 región VH de MS-Roche nº7.4H2x7.2L1; ADN; secuencia artificial

CAATTGGTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGCGTC
TGAGCTGCGCGGCCTCCGGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTG
CGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGCTATTAATTATAATGG
TGCTCGTATTTATTATGCTGATTCTGTTAAGGGTCGTTTTACCATTTACGTGAT
AATTCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACG
GCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTAAGGGTAATACTCATAAGCCTTATGGTTAT
GTTTCGTTATTTTGATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
(SEQ ID NO: 36)

10

SEQ ID NO: 37 región VH de proteína de MS-Roche nº7.4H2x7.2L1; proteína/1; secuencia artificial

QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINYNGA
RIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGKGNTHKPYGYVRY
FDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 37)

15

SEQ ID NO: 38 región VH de MS-Roche nº7.9H2x7.12L2; ADN; secuencia artificial

CAATTGGTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGCGTC
TGAGCTGCGCGGCCTCCGGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTG
CGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGCTATTAATGCTGATG
GTAATCGTAAGTATTATGCTGATTCTGTTAAGGGTCGTTTTACCATTTACGTGA
TAATTCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATAC
GGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTAAGGGTAATACTCATAAGCCTTATGGTTA
TGTTTCGTTATTTTGATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
(SEQ ID NO: 38)

20

SEQ ID NO: 39 región VH de proteína de MS-Roche nº7.9H2x7.12L2; proteína/1; secuencia artificial

ES 2 590 684 T3

QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINADGN
RKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGKGNTHKPYGYVR
YFDVWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 39)

SEQ ID NO: 40 región VH de MS-Roche nº7.9H4x7.12L2; ADN; secuencia artificial

CAATTGGTGGAAAGCGGCGGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGCGTC
TGAGCTGCGCGGCCTCCGGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTG
CGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGCTATTAATGCTGTTGG
TATGAAGAAGTTTTATGCTGATTCTGTAAAGGGTCGTTTTACCATTTACGTGAT
AATTCGAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACG
GCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTAAGGGTAATACTCATAAGCCTTATGGTTAT
GTTTCGTTATTTTATGATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
(SEQ ID NO: 40)

5

SEQ ID NO: 41 región VH de proteína de MS-Roche nº7.9H4x7.12L2; proteína/1; secuencia artificial

QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINAVGM
KKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGKGNTHKPYGYVR
YFDVWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 41)

10

SEQ ID NO: 42 región VH de MS-Roche nº7.11H1x7.11L1; ADN; secuencia artificial

CAATTGGTGGAAAGCGGCGGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGCGTC
TGAGCTGCGCGGCCTCCGGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTG
CGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGGTATTAATGCTGCTG
GTTTTCGTACTTATTATGCTGATTCTGTAAAGGGTCGTTTTACCATTTACGTGA
TAATTCGAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATAC
GGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTAAGGGTAATACTCATAAGCCTTATGGTTA
TGTTTCGTTATTTTATGATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
(SEQ ID NO: 42)

15

SEQ ID NO: 43 región VH de proteína de MS-Roche nº7.11H1x7.11L1; proteína/1; secuencia artificial

QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGINAAGF
RTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGKGNTHKPYGYVR
YFDVWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 43)

20

SEQ ID NO: 44 región VH de MS-Roche nº7.11H1x7.2L1; ADN; secuencia artificial

CAATTGGTGGAAAGCGGCGGGCCTGGTGAACCGGGCGGCAGCCTGCGTC
TGAGCTGCGCGGCCTCCGGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTG
CGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGGTATTAATGCTGCTG
GTTTTCGTACTTATTATGCTGATTCTGTTAAGGGTCGTTTTACCATTTCACGTGA
TAATTCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATAC
GGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTAAGGGTAATACTCATAAGCCTTATGGTTA
TGTTTCGTTATTTTGATGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
(SEQ ID NO: 44)

SEQ ID NO: 45 región VH de proteína de MS-Roche nº7.11H1x7.2L1; proteína/1; secuencia artificial

QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGINAAGF
RTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGKGNTHKPYGYVR
YFDVWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 45)

SEQ ID NO: 46 región VL de MS-Roche nº3.6H5x3.6L2; ADN; secuencia artificial

GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAAC
GTGCGACCCTGAGCTGCAGAGCGAGCCAGTTTCTTTCTCGTTATTATCTGGCGT
GGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACCGCGTCTATTAATTTATGGCGCGAGC
AGCCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGCGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACGG
ATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGGTTTATTATTG
CCAGCAGACTTATAATTATCCTCCTACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGTTGAAAT
TAAACGTACG (SEQ ID NO: 46)

SEQ ID NO: 47 región VL de proteína de MS-Roche nº3.6H5x3.6L2; proteína/1; secuencia artificial

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQFLSRYYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA
TGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQTYNYPPTFGQGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 47)

SEQ ID NO: 48 región VL de MS-Roche nº3.6H8x3.6L2; ADN; secuencia artificial

GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAAC
GTGCGACCCTGAGCTGCAGAGCGAGCCAGTTTCTTTCTCGTTATTATCTGGCGT
GGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACCGCGTCTATTAATTTATGGCGCGAGC
AGCCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGCGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACGG
ATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGGTTTATTATTG
CCAGCAGACTTATAATTATCCTCCTACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGTTGAAAT
TAAACGTACG (SEQ ID NO: 48)

SEQ ID NO: 49 región VL de proteína de MS-Roche nº3.6H8x3.6L2; proteína/1; secuencia artificial

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQFLSRYYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA
TGVPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQTYNYPPTFGQGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 49)

SEQ ID NO: 50 región VL de MS-Roche nº7.4H2x7.2L1; ADN; secuencia artificial

GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAAC
GTGCGACCCTGAGCTGCAGAGCGAGCCAGTATGTTGATCGTACTTATCTGGCG
TGGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACCGCGTCTATTAATTTATGGCGCGAG
CAGCCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGCGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACG
GATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGACTTATTATT
GCCAGCAGATTTATTCTTTTCCTCATACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGTTGAAAT
5 TAAACGTACG (SEQ ID NO: 50)

SEQ ID NO: 51 región VL de proteína de MS-Roche nº7.4H2x7.2L1; proteína/1; secuencia artificial

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQYVDRTYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA
TGVPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFATYYCQIYSPHPTFGQGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 51)

10 SEQ ID NO: 52 región VL de MS-Roche nº7.9H2x7.12L2; ADN; secuencia artificial

GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAAC
GTGCGACCCTGAGCTGCAGAGCGAGCCAGCGTTTTTTTTATAAGTATCTGGCGT
GGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACCGCGTCTATTAATTTCTGGTTCTTCTA
ACCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGCGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACGGA
TTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGGTTTATTATTGC
CTTCAGCTTTATAATATTCCTAATACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGTTGAAATTA
AACGTACG (SEQ ID NO: 52)

15 SEQ ID NO: 53 región VL de proteína de MS-Roche nº7.9H2x7.12L2; proteína/1; secuencia artificial

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQRFFYKYLAWYQQKPGQAPRLLISGSSNRA
TGVPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCLQLYNIPNTFGQGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 53)

20 SEQ ID NO: 54 región VL de MS-Roche nº7.9H4x7.12L2; ADN; secuencia artificial

GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAAC
GTGCGACCCTGAGCTGCAGAGCGAGCCAGCGTTTTTTTTATAAGTATCTGGCGT
GGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACCGCGTCTATTAATTTCTGGTTCTTCTA
ACCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGCGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACGGA
TTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGGTTTATTATTGC
CTTCAGCTTTATAATATTCCTAATACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGTTGAAATTA
AACGTACG (SEQ ID NO: 54)

ES 2 590 684 T3

SEQ ID NO: 55 región VL de proteína de MS-Roche nº7.9H4x7.12L2; proteína/1; secuencia artificial

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQRFFYKYLAWYQQKPGQAPRLLISGSSNRA
TGVPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCLQLYNIPNTFGQGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 55)

5 SEQ ID NO: 56 región VL de MS-Roche nº7.11H1x7.11L1; ADN; secuencia artificial

GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAAC
GTGCGACCCTGAGCTGCAGAGCGAGCCAGCGTATTCTTCGTATTTATCTGGCG
TGGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACCGCGTCTATTAATTTATGGCGCGAG
CAGCCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGCGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACG
GATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGACTTATTATT
GCCAGCAGGTTTATTCTCCTCCTCATACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGTTGAAA
TTAAACGTACG (SEQ ID NO: 56)

10 SEQ ID NO: 57 región VL de proteína de MS-Roche nº7.11H1x7.11L1; proteína/1; secuencia artificial

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQRILRIYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRAT
GVPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFATYYCQQVYSPPHFTFGQGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 57)

SEQ ID NO: 58 región VL de MS-Roche nº7.11H1x7.2L1; ADN; secuencia artificial

15 GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGTCTCCGGGCGAAC
GTGCGACCCTGAGCTGCAGAGCGAGCCAGTATGTTGATCGTACTTATCTGGCG
TGGTACCAGCAGAAACCAGGTCAAGCACCGCGTCTATTAATTTATGGCGCGAG
CAGCCGTGCAACTGGGGTCCCGGCGCGTTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACG
GATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCTGAAGACTTTGCGACTTATTATT
GCCAGCAGATTTATTCTTTTCCTCATACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGTTGAAAT
TAAACGTACG (SEQ ID NO: 58)

SEQ ID NO: 59 región VL de proteína de MS-Roche nº7.11H1x7.2L1; proteína/1; secuencia artificial

20 DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQYVDRTYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA
TGVPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFATYYCQQIYSPPHFTFGQGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 59)

SEQ ID NO: 60 región HCDR3 de MS-Roche nº3.6H5x3.6L2; ADN; secuencia artificial
CTTACTCATTATGCTCGTTATTATCGTTATTTGATGTT (SEQ ID NO: 60)

25 SEQ ID NO: 61 región HCDR3 de proteína de MS-Roche nº3.6H5x3.6L2; proteína/1; secuencia artificial
LTHYARYYRYFDV (SEQ ID NO: 61)

SEQ ID NO: 62 región HCDR3 de MS-Roche nº3.6H8x3.6L2; ADN; secuencia artificial
CTTACTCATTATGCTCGTTATTATCGTTATTTGATGTT (SEQ ID NO: 62)

30 SEQ ID NO: 63 región HCDR3 de proteína de MS-Roche nº3.6H8x3.6L2; proteína/1; secuencia artificial
LTHYARYYRYFDV (SEQ ID NO: 63)

ES 2 590 684 T3

- SEQ ID NO: 64 región HCDR3 de MS-Roche nº7.4H2x7.2L1; ADN; secuencia artificial
GGTAAGGGTAATACTCATAAGCCTTATGGTTATGTTTCGTTATTTTGATGTT (SEQ ID NO: 64)
- 5 SEQ ID NO: 65 región HCDR3 de proteína de MS-Roche nº7.4H2x7.2L1; proteína/1; secuencia artificial
GKGNTHKPYGYVRYFDV (SEQ ID NO: 65)
- SEQ ID NO: 66 región HCDR3 de MS-Roche nº7.9H2x7.12L2; ADN; secuencia artificial
GGTAAGGGTAATACTCATAAGCCTTATGGTTATGTTTCGTTATTTTGATGTT (SEQ ID NO: 66)
- 10 SEQ ID NO: 67 región HCDR3 de proteína de MS-Roche nº7.9H2x7.12L2; proteína/1; secuencia artificial
GKGNTHKPYGYVRYFDV (SEQ ID NO: 67)
- SEQ ID NO: 68 región HCDR3 de MS-Roche nº7.9H4x7.12L2; ADN; secuencia artificial
GGTAAGGGTAATACTCATAAGCCTTATGGTTATGTTTCGTTATTTTGATGTT (SEQ ID NO: 68)
- 15 SEQ ID NO: 69 región HCDR3 de proteína de MS-Roche nº7.9H4x7.12L2; proteína/1; secuencia artificial
GKGNTHKPYGYVRYFDV (SEQ ID NO: 69)
- SEQ ID NO: 70 región HCDR3 de MS-Roche nº7.11H1x7.11L1; ADN; secuencia artificial
GGTAAGGGTAATACTCATAAGCCTTATGGTTATGTTTCGTTATTTTGATGTT (SEQ ID NO: 70)
- 20 SEQ ID NO: 71 región HCDR3 de proteína de MS-Roche nº7.11H1x7.11L1; proteína/1; secuencia artificial
GKGNTHKPYGYVRYFDV (SEQ ID NO: 71)
- SEQ ID NO: 72 región HCDR3 de MS-Roche nº7.11H1x7.2L1; ADN; secuencia artificial
GGTAAGGGTAATACTCATAAGCCTTATGGTTATGTTTCGTTATTTTGATGTT (SEQ ID NO: 72)
- 25 SEQ ID NO: 73 región HCDR3 de proteína de MS-Roche nº7.11H1x7.2L1; proteína/1; secuencia artificial
GKGNTHKPYGYVRYFDV (SEQ ID NO: 73)
- 30 SEQ ID NO: 74 región LCDR3 de MS-Roche nº3.6H5x3.6L2; ADN; secuencia artificial
CAGCAGACTTATAATTATCCTCCT (SEQ ID NO: 74)
- SEQ ID NO: 75 región LCDR3 de proteína de MS-Roche nº3.6H5x3.6L2; proteína/1; secuencia artificial
QQTYNYP (SEQ ID NO: 75)
- 35 SEQ ID NO: 76 región LCDR3 de MS-Roche nº3.6H8x3.6L2; ADN; secuencia artificial
CAGCAGACTTATAATTATCCTCCT (SEQ ID NO: 76)
- SEQ ID NO: 77 región LCDR3 de proteína de MS-Roche nº3.6H8x3.6L2; proteína/1; secuencia artificial
QQTYNYP (SEQ ID NO: 77)
- 40 SEQ ID NO: 78 región LCDR3 de MS-Roche nº7.4H2x7.2L1; ADN; secuencia artificial
CAGCAGATTTATTCTTTTCTCAT (SEQ ID NO: 78)
- 45 SEQ ID NO: 79 región LCDR3 de proteína de MS-Roche nº7.4H2x7.2L1; proteína/1; secuencia artificial
QQIYSFP (SEQ ID NO: 79)
- SEQ ID NO: 80 región LCDR3 de MS-Roche nº7.9H2x7.12L2; ADN; secuencia artificial
CTTCAGCTTTATAATATTCCTAAT (SEQ ID NO: 80)
- 50 SEQ ID NO: 81 región LCDR3 de proteína de MS-Roche nº7.9H2x7.12L2; proteína/1; secuencia artificial
LQLYNIPN (SEQ ID NO: 81)
- SEQ ID NO: 82 región LCDR3 de MS-Roche nº7.9H4x7.12L2; ADN; secuencia artificial
CTTCAGCTTTATAATATTCCTAAT (SEQ ID NO: 82)
- 55 SEQ ID NO: 83 región LCDR3 de proteína de MS-Roche nº7.9H4x7.12L2; proteína/1; secuencia artificial
LQLYNIPN (SEQ ID NO: 83)
- 60 SEQ ID NO: 84 región LCDR3 de MS-Roche nº7.11H1x7.11L1; ADN; secuencia artificial
CAGCAGGTTTATTCTCCTCCTCAT (SEQ ID NO: 84)
- SEQ ID NO: 85 región LCDR3 de proteína de MS-Roche nº7.11H1x7.11L1; proteína/1; secuencia artificial
QQVYSPPH (SEQ ID NO: 85)
- 65

ES 2 590 684 T3

SEQ ID NO: 86 región LCDR3 de MS-Roche n°7.11H1x7.2L1; ADN; secuencia artificial
CAGCAGATTTATTCTTTTCCTCAT (SEQ ID NO: 86)

5 SEQ ID NO: 87 región LCDR3 de proteína de MS-Roche n°7.11H1x7.2L1; proteína/1; secuencia artificial
QQIYSFPH (SEQ ID NO: 87)

SEQ ID NO: 88 región VH de MS-Roche n°7.9H7; ADN; secuencia artificial

Cagggtcaattggtggaaagcggcggcgccctggtgcaaccgggcggcagcctgctgagctgcgcgccctc
cggatttaccttagcagctatgcatgagctgggtgccaagcccctgggaagggtctcagagtggtgagcgctat

taatgcttctggtactcgtacttattatgctgattctgtaagggtcgtttaccatttcacgtgataattcgaaaaacaccctg
tatctgcaaatgaacagcctgctgcggaagatacggccgtgattattgcgcgctgtaagggaataactcataag
ccttatggttatgcttattttgatgtttggggccaaggcaccctgggacggttagctca (SEQ ID NO: 88)

10 SEQ ID NO: 89 región VH de proteína de MS-Roche n°7.9H7; proteína/1; secuencia artificial

QVQLVESGGGLVQP G G S L R L S C A A S G F T F S S Y A M S W V R Q A P G K G L E W V S A I N A S
G T R T Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R G K G N T H K P Y G Y
V R Y F D V W G Q G T L V T V S S (SEQ ID NO: 89)

15 SEQ ID NO: 90 región VL de MS-Roche n°7.9H7; ADN; secuencia artificial

Gatatcgtgctgaccagagcccggcgaccctgagcctgtctccggggaacgtgacccctgagctgcagagcg
agccagagcgtgagcagcagctatctggcgtgtaccagcagaaaccagggtcaagcaccgctctattaattatg
gcgcgagcagccgtgcaactgggtcccggcgcttttagcggctctggatccggcacggattttaccctgaccatta
gcagcctggaacctgaagactttgcgacttattatgccttcagattataatatgcctattaccttggccagggtacgaa
agttgaaattaaacgtacg (SEQ ID NO: 90)

20 SEQ ID NO: 91 región VL de proteína de MS-Roche n°7.9H7; proteína/1; secuencia artificial

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA
TGVPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFATYYCLQIYNMPITFGQGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 91)

SEQ ID NO: 92 región HCDR3 de MS-Roche n°7.9H7; ADN; secuencia artificial
Ggtaagggaataactcataagcctatggtatgttcgtattttgatgtt (SEQ ID NO: 92)

25 SEQ ID NO: 93 región HCDR3 de proteína de MS-Roche n°7.9H7; proteína/1; secuencia artificial
GKGNTHPYGYVRYFDV (SEQ ID NO: 93)

30 SEQ ID NO: 94 región LCDR3 de MS-Roche n°7.9H7; ADN; secuencia artificial
Ctcagattataatatgcctatt (SEQ ID NO: 94)

SEQ ID NO: 95 región LCDR3 de proteína de MS-Roche n°7.9H7; proteína/1; secuencia artificial
LQIYNMPI (SEQ ID NO: 95)

35 Secuencias ilustrativas adicionales se representan en el listado de secuencia adjunto y también se muestran en las
tablas adjuntas, en particular en las tablas 1, 8 y 10.

Las Figuras muestran:

40 Figura 1. Compendio de secuencia de la genoteca HuCAL®-Fab1. La numeración según VBASE excepto el
hueco (gap) en la posición 9 de VLλ. En VBASE el hueco se fija en la posición 10 (Chothia y col.,
1992). En el compendio de secuencia todos los residuos CDR3 que se mantienen constantes están

indicados. Se pueden encontrar secuencias correspondientes empleadas para la genoteca HuCAL-Fab1 en el listado de secuencia adjunto.

A: secuencia de aminoácidos
B: secuencia de ADN.

- 5
- Figura 2: vector pMORPH®18_Fab de manifestación de Fab. Mapeado del vector y secuencia de ADN incluyendo los sitios de restricción.
- 10
- Figura 3: Vector pMORPH®x9_Fab de expresión de Fab. Mapeado del vector y secuencia de ADN incluyendo los sitios de restricción.
- Figura 4: Secuencias de los fragmentos Fab parentales MS-Roche-3, MS-Roche-7 y MS-Roche-8
- 15
- A: secuencia de aminoácidos
B: secuencia de ADN
- Figura 5: inmunofluorescencia indirecta de placas de amiloide de una sección de criostato de córtex temporal humano. Las placas se marcaron con MS-R N° 3.2 Fab (paneles superiores) y MS-R N° 7.4 Fab (paneles inferiores) a 20 µ/ml (paneles de la izquierda) y 5 µg/ml (paneles de la derecha) bajo condiciones de bloqueo estricto. El MS-R Fab unido se reveló mediante anti-Cy3 humano de cabra.
- 20
- Figura 6: inmunofluorescencia indirecta de placas de amiloide de una sección de criostato de córtex temporal humano. Las placas se marcaron con MS-R N° 3.3 IgG1 (paneles superiores) y MS-R N° 7.12 IgG1 (paneles inferiores) a 0,05 µg/ml (paneles de la izquierda) y 0,01 µg/ml (paneles de la derecha) bajo condiciones de bloqueo estricto. El anticuerpo MS-R IgG1 unido se reveló mediante anti-(H+L)-Cy3 humano de cabra.
- 25
- Figura 7: inmunofluorescencia indirecta de placas de amiloide de una sección de criostato de córtex temporal humano usando anticuerpos después de la maduración por afinidad final. Las placas se marcaron con MS-R N° 7.9H7 IgG1 (MAB 31, panel superior), MS-R N° 7.11H1x7.2L1 IgG1 (MAB 11, panel medio) y MS-R N° 3.4H7 (panel inferior). Los anticuerpos se usaron a 0,05 µg/ml (paneles de la izquierda) y 0,01 µg/ml (paneles de la derecha) bajo condiciones de bloqueo estricto. El anticuerpo MS-R IgG1 unido se reveló mediante anti-(H+L)-Cy3 humano de cabra. Escala: 8,5 mm = 150 µm.
- 30
- Figura 8: Ensayo de polimerización. Los anticuerpos anti-Aβ previenen la incorporación de Aβ biotinilado en agregados Aβ preformados.
- 35
- Figura 9: Ensayo de despolimerización. Los anticuerpos anti- Aβ inducen la liberación de Aβ biotinilado de Aβ agregado.
- 40
- Figura 10: La decoración *in vivo* de las placas de amiloide en un ratón transgénico doble por APP/PS2 después de la inyección intravenosa de 1 mg de MS-Roche IgG N° 7.9H2x7.12L2. Después de tres días el ratón se perfundió con solución salina tamponada con fosfato y se sacrificó. La presencia de IgG humano unido a placas de amiloide se reveló por microscopía confocal después de marcar secciones de criostato del córtex frontal con un anti-conjugado IgG-Cy3 humano de cabra (panel B). La misma sección se sometió a contraste con un anticuerpo monoclonal de ratón anti-Abeta (conjugado BAP-2-Alexa488, panel A) para visualizar la posición de las placas de amiloide. Se muestran los canales individuales rojo (panel B) y verde (panel A), las señales de imagen fusionadas (panel D) y colocalizadas (panel C). Escala: 1 cm = 50 µm.
- 45
- Figura 11: La decoración *in vivo* de las placas de amiloide en un ratón transgénico doble por APP/PS2 después de la inyección intravenosa de 1 mg de MS-Roche IgG N° 7.9H4x7.12L2. Las condiciones experimentales y el procedimiento de tinción eran idénticos a los descritos en la leyenda de la figura 10. Escala: 1,6 = 50 µm.
- 50
- Figura 12: La decoración *in vivo* de las placas de amiloide en un ratón transgénico doble por APP/PS2 después de la inyección intravenosa de 1 mg de MS-Roche IgG N° 7.11H1x7.2L1 (MAB). Las condiciones experimentales y el procedimiento de tinción eran idénticos a los descritos en la leyenda de la figura 10. Escala: 1,4 = 70 µm.
- 55
- Figura 13: La decoración *in vivo* de las placas de amiloide en un ratón transgénico doble por APP/PS2 después de la inyección intravenosa de 2 mg de MS-Roche IgG N° 7.9H7 (MAB 31) en el día 0, 3 y 6. Después de nueve días el ratón se perfundió con solución salina tamponada con fosfato y se sacrificó. La presencia de IgG humano unido a placas de amiloide se reveló por microscopía confocal después de marcar secciones de criostato del córtex frontal con un anti-conjugado IgG-Cy3 humano de cabra
- 60
- 65

(panel B). La misma sección se sometió a contraste con un anticuerpo monoclonal de ratón anti-Abeta (conjugado BAP-2-Alexa488, panel A) para visualizar la posición de las placas de amiloide. Se muestran los canales individuales rojo (panel B) y verde (panel A), las señales de imagen fusionadas (panel D) y colocalizadas (panel C). Escala: 1,6 cm = 80 μ m (paneles A, B, C); 1,0 cm = 50 μ m (panel D).

Figura 14: La decoración *in vivo* de las placas de amiloide en un ratón transgénico doble por APP/PS2 después de inyección intravenosa de 2 mg de MS-Roche IgG N° 7.11H1x7.2L1 (MAB 11) en el día 0, 3 y 6. Las condiciones experimentales y el procedimiento de tinción eran idénticos a los descritos en la leyenda de la figura 13. Escala: 1,6 cm = 80 μ m.

Figura 15: análisis de unión de anticuerpos anti-A β a APP de superficie celular. La unión del anticuerpo a células HEK293 sometidas a transfección con APP y células control no sometidas a transfección se analizó por citometría de flujo.

Los ejemplos ilustran la invención.

Ejemplo 1: Construcción y Cribado de una genoteca de anticuerpo combinatorio humano (HuCAL®-Fab1)

Clonación de HuCAL®-Fab1

HuCAL®-Fab1 es una genoteca de anticuerpo humano modular completamente sintético en el formato de fragmento de anticuerpo Fab. El HuCAL®-Fab1 se ensambló comenzando desde una genoteca de anticuerpo en el formato de cadena simple (HuCAL®-scFv; Knappik, (2000), *J. Mol. Biol.* 296, 57-86).

Posiciones 1 y 2 de VL. Los genes maestros de HuCAL® originales se construyeron con sus auténticos terminales N: VL λ 1: QS (CAGAGC), VL λ 2: QS (CAGAGC) Y VL λ 3: SY (AGCTAT). Las secuencias que contienen estos aminoácidos se muestran en el documento WO 97/08320. Durante la construcción de la genoteca HuCAL®, los dos primeros aminoácidos se cambiaron a DI para facilitar la clonación de la genoteca (sitio *EcoRI*). Todas las genotecas HuCAL® contienen genes VL λ con el sitio *EcoRV* GATATC (DI) en el extremo 5'. Todos los genes kappa de HuCAL® (genes maestros y todos los genes en la genoteca) contienen DI en el extremo 5' (figura 1A y B).

Posición 1 de VH: Los genes maestros de HuCAL® originales se construyeron con sus auténticos terminales N: VH1A, VH1B, VH2, VH4 y VH6 con Q (=CAG) como el primer aminoácido y VH3 y VH5 con E (=GAA) como el primer aminoácido. Las secuencias que contienen estos aminoácidos se muestran en el documento WO 97/08320. Durante la clonación de la genoteca HuCAL®-Fab1, el aminoácido en la posición 1 de VH se cambió a Q (CAG) en todos los genes VH (figura 1A y B).

Diseño de las genotecas CDR

Posición 85 de Vk1/Vk3. Debido al procedimiento de mutagénesis por casete usada para introducir la genoteca de CDR3 (Knappik, (2000), loc. cit.), la posición 85 de Vk1 y Vk3 puede ser o bien T o V. Así, durante la construcción de la genoteca HuCAL®-scFv1, la posición 85 de Vk1 y Vk3 se varió tal como sigue: Vk1 original, 85T (codón ACC); genoteca de Vk1, 85T u 85V (codones TRIM ACT o GTT); Vk3 original, 85V (codón GTG); genoteca Vk3, 85T o 85V (codones TRIM ACT o GTT); lo mismo se aplica a HuCAL®-Fab1.

Diseño de CDR3. Todos los residuos CDR3, que se mantuvieron constantes, están indicados en la figura 1A y B.

Longitud de CDR3. La distribución en longitud de CDR3 diseñada es como sigue. Los residuos, que se variaron se muestran entre paréntesis (x) en la figura 1. CDR3 de V kappa, 8 residuos de aminoácidos (posición 89 a 96) (ocasionalmente 7-10 residuos), con Q89, S90 y D92 fijados; y VH CDR3, 5 a 28 residuos de aminoácidos (posición 95 a 102) (ocasionalmente 4-28) con D101 fijado.

HuCAL®-Fab1 se clonó en un vector de expresión fagómico pMORPH®18_Fab1 (figura 2). Este vector comprende el fragmento Fd con una secuencia señal phoA fusionada en el terminal C a una proteína de gen III truncada de fago filamentoso, y comprende además la VL-CL de cadena ligera con una secuencia señal ompA. Ambas cadenas están bajo el control del operón *lac*. Los dominios constantes C λ C κ y CH1 son genes sintéticos completamente compatibles con el sistema modular de HuCAL® (Knappik, (2000), loc. cit.).

La cadena completa de VH (fragmento *MunI/StyI*) se reemplazó con un fragmento patrón (dummy) de 1.205 pb que contiene la unidad de transcripción de β -lactamasa (*bla*), facilitando de ese modo etapas posteriores para la preparación del fragmento vector y permitiendo la selección de la completa separación de VH.

Después del reemplazo de VH, se separó VL λ por *EcoRI/Drall* y VL κ por *EcoRI/BsIWI* y se reemplazaron con el fragmento de gen de fosfatasa alcalina bacteriana (*bap*) (1.420 pb).

Como la variabilidad de las cadenas ligeras es menor que la de las cadenas pesadas, se empezó la clonación con las genotecas de la cadena ligera. Las genotecas de la cadena ligera VL λ y VL κ diversificadas en L-CDR3, que se generaron para la genoteca de HuCAL $\text{\textcircled{R}}$ -scFv (Knappik, (2000), loc. cit.), también se usaron para la clonación de HuCAL $\text{\textcircled{R}}$ -Fab1. En el caso de λ consistían en λ 1-, λ 2- y λ 3-HuCAL $\text{\textcircled{R}}$ -región estructural y tenían una variabilidad total de 5.7×10^6 . Fragmentos VL λ se amplificaron mediante 15 ciclos de PCR (Pwo-polimerasa) con cebadores 5'-GTGGTGGTCCGATATC-3' (SEQ ID NO: 28) y 5'-AGCGTCACACTCGGTGCGGCTTTCGGCTGGCCAAGAACGGTTA-3' (SEQ ID NO: 29). Los productos de PCR se digirieron con *EcoRV/DraIII* y se purificaron con gel. En el caso de la genoteca de VL λ , se separó el bap-dummy por *EcoRV/DraIII* del vector de la genoteca. Se ligaron 2 μ g del vector gel purificado con un exceso de 3 veces molar de cadenas de VL λ durante 16 h a 16°C, y las mezclas de ligación se sometieron a electroporización en 800 μ l de células TOP10F de *E. coli* (Invitrogen), produciendo todo junto 4.1×10^8 colonias independientes. Los transformantes se amplificaron aproximadamente 2.000 veces en 2 x YT/glucosa al 1%/34 μ g/ml de cloranfenicol/100 μ g/ml de ampicilina, se recogieron y se almacenaron en glicerol al 20% (p/v) a -80 °C.

Las genotecas κ comprenden los genes maestros de HuCAL $\text{\textcircled{R}}$ de κ 1, κ 2, κ 3 y κ 4 con una variabilidad total de $5,7 \times 10^6$. Las cadenas de VL κ se obtuvieron por digestión por restricción con *EcoRV/BsiWI* y se purificó con gel. En el caso de la genoteca VL κ , el bap-dummy se separó por el *EcoRV/BsiWI* del vector de la genoteca. 2 μ g del vector gel purificado se mezclaron con un exceso de 5 veces molar de cadenas de VL κ . La ligación y la transformación en las células TOP10F de *E. coli* (Invitrogen) se realizaron como se describe para las cadenas de VL λ , produciendo todo junto $1,6 \times 10^8$ colonias independientes.

Se preparó el ADN de las dos genotecas de cadena ligera y el bla-dummy se separó por *MunI/StyI*, generando de ese modo los dos vectores para la inserción de las subgenotecas de VH. Las genotecas de VH de HuCAL $\text{\textcircled{R}}$ -scFv se usaron para la generación de HuCAL $\text{\textcircled{R}}$ -Fab1. Las genotecas de VH de HuCAL $\text{\textcircled{R}}$ -scFv consisten en los genes maestros VH1A/B-6 diversificados con dos casetes de genoteca de trinucleótidos de VH-CDR3 que difieren en longitud de CDR3 por separado, y cada genoteca de VH combinada con la genoteca de VL κ y con la de VL λ . Para la generación de HuCAL $\text{\textcircled{R}}$ -Fab1 se preparó ADN de estas genotecas de VH conservando la variabilidad original. El ADN se digirió con *MunI/StyI* y se purificó con gel. Un exceso de 5 veces molar de las cadenas de VH se ligaron con 3 μ g del vector de la genoteca de VL λ y con 3 μ g del vector de la genoteca de VL κ durante 4 h a 22°C. Las mezclas de ligación se sometieron a electroporación para cada vector en 1.2000 μ l de células TOP10F de *E. coli* (Invitrogen), produciendo todo junto $2,1 \times 10^{10}$ colonias independientes. Los transformantes se amplificaron aproximadamente 4.000 veces en 2 x YT/glucosa al 1%/34 μ g/ml de cloranfenicol/10 μ g/ml de tetraciclina, se recogieron y se almacenaron en glicerol al 20% (p/v) a -80 °C.

Como control de calidad la cadena ligera y la cadena pesada de los clones sencillos se secuenciaron con 5'-CAGGAAACAGCTATGAC-3' (SEQ ID NO: 30) y 5'-TACCGTTGCTCTTCACCCC-3' (SEQ ID NO: 31), respectivamente.

Rescate del fagómido, amplificación y purificación del fago.

Se amplificó HuCAL $\text{\textcircled{R}}$ -Fab1 en medio 2 x TY que contenía 34 μ g de cloranfenicol, 10 μ g/ml de tetraciclina y glucosa al 1% (2 x TY-CG). Después de la infección por fago ayudante (VCSM13) a 37 °C a una DO₆₀₀ de aproximadamente 0,5, centrifugación y resuspensión en 2 x TY/ 34 μ g/ml de cloranfenicol/ 50 μ g/ml de kanamicina, las células se dejaron crecer durante la noche a 30 °C. El fago se precipitó con PEG desde el sobrenadante (Ausubel, (1998), *Current protocols in molecular biology*. John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, EEUU), se resuspendieron en PBS/glicerol al 20% y se almacenaron a -80 °C. La amplificación del fago entre dos rondas de inmunoadsorción se condujeron tal como sigue: las células TG1 de la fase logarítmica media se infectaron con fago eluido y se colocaron en placa sobre agar LB complementado con 1% de glucosa y 34 μ g/ml de cloranfenicol. Después de incubación durante toda la noche a 30 °C, las colonias se desecharon, se ajustaron a una DO₆₀₀ de 0,5 y se añadió fago ayudante como se describió anteriormente.

Ejemplo 2: inmunoadsorción de la fase sólida

Se recubrieron pocillos de placas de microtitulación Maxi SorpTM F96 (Nuc) con 100 μ l de péptido A β (1-40) humano 2,5 μ M (Bachem) disueltos en TBS que contenía NaN₃ (0,05% v/v) y la placa sellada se incubó durante 3 días a 37 °C donde el péptido es propenso a agregarse sobre la placa. Después del bloqueo con leche secada sin grasa al 5% en TBS, se añadieron $1-5 \times 10^{12}$ fagos de HuCAL $\text{\textcircled{R}}$ -Fab purificados como anteriormente durante 1 hora a 20 °C. Después de diversas etapas de lavado, los fagos unidos se eluyeron mediante elución por pH con NaCl 500 mM, glicina 100 mM pH 2,2 y neutralización posterior con TRIS-Cl 1 M pH 7. Se realizaron tres rondas de inmunoadsorción con amplificación de fago conducida entre cada ronda como se describió anteriormente, la severidad del lavado se incrementó de ronda en ronda.

Ejemplo 3: Subclonación de fragmentos Fab seleccionados para expresión

Se subclonaron los insertos codificadores de Fab de los fragmentos HuCAL $\text{\textcircled{R}}$ -Fab seleccionados en el vector de expresión pMORPH $\text{\textcircled{R}}$ x7_FS para facilitar la rápida expresión de Fab soluble. La preparación de ADN de los clones

de HuCAL®-Fab seleccionados se digirieron con *XbaI/EcoRI*, cortando así el inserto codificador de Fab (ompA-VL y phoA-Fd). La subclonación de los insertos purificados en el vector pMORPH@x7 cortado con *XbaI/EcoRI*, llevándose a cabo previamente un inserto de scFv, conduce a un vector de expresión Fab denominado pMORPH@x7_Fab1 (figura 3). Los Fabs expresados en este vector lleva dos etiquetas C-terminales (FLAG y Strep) para la detección y purificación.

Ejemplo 4: Identificación de los fragmentos Fab de unión a A β por ELISA

Se recubrieron pocillos de placas de microtitulación Maxisorp™ F384 (Nuc) con 20 μ l de péptido A β (1-40) humano 2,5 μ M (Bachem) disueltos en TBS que contenía NaN₃ (0,05 % v/v) y la placa sellada se incubó durante 3 días a 37 °C, donde el péptido es propenso a agregarse sobre la placa. La expresión de Fab individual se indujo con IPTG 1 mM durante 16 h a 22 °C. El Fab soluble se extrajo de *E. coli* por lisis BEL (ácido bórico, NaCl, EDTA y lisozima que contiene tampón pH 8) y se usó en un ensayo ELISA. El fragmento Fab se detectó con un anticuerpo anti-Fab de cabra conjugado con fosfatasa alcalina (Dianova/Jackson Immuno Research). Después de excitación a 340 nm se leyó la emisión a 535 nm después de la adición del sustrato de fluorescencia AttoPhos (Roche Diagnostics).

Ejemplo 5: Optimización de fragmentos de anticuerpo

Para optimizar la afinidad de unión de los fragmentos de anticuerpo de unión a A β seleccionados, algunos de los fragmentos Fab, MS-Roche-3 (MSR-3), MS-Roche-7 (MSR-7) y MS-Roche-8 (MSR-8) (figura 4), se usaron para construir una genoteca de fragmentos de anticuerpo Fab reemplazando la cadena VLk3 parental mediante el acervo de todas las cadenas kappa κ 1-3 diversificadas en CDR3 de la genoteca HuCAL® (Knappik y col., 2.000).

Los fragmentos Fab MS-Roche-3, 7 y 8 se clonaron por *XbaI/EcoRI* de pMORPH@x9_FS en pMORPH@18, un vector basado en fagómido para manifestación por fago de fragmentos Fab, para generar pMORPH@18_Fab1 (figura 2). Se clonó un acervo de cadena kappa en pMORPH@18_Fab1 por los sitios de restricción *XbaI/SphI*.

La genoteca de optimización de Fab resultante se somete a cribado por inmunoadsorción frente a péptido A β (1-40) humano agregado revestido con un soporte sólido como se describe en el ejemplo 2.

Los clones optimizados se identificaron mediante clasificación por k_{off} en un ensayo Biacore como se describe en el Ejemplo 8. Los clones optimizados MS-Roche-3.2, 3.3, 3.4, 3.6, 7.2, 7.3, 7.4, 7.9, 7.11, 7.12, 8.1, 8.2, se caracterizaron más y mostraron afinidad y actividad biológica mejorada en comparación con el fragmento de partida MS-Roche-3, MS-Roche-7 y MS-Roche-8 (figura 4). Las CDRs enumeradas se refieren al gen de anticuerpo basado en consenso HuCAL® VH3kappa3. El fragmento Fab MS-Roche-7.12 se obtuvo clonando la HCDR3 del clon parental MS-R 7 en un genoteca HuCAL®-Fab, que porta diversidad en todas las 6 regiones CDR usando un procedimiento de diseño idéntico al de los casetes de CDR3 descrito en Knappik y col., 2000. Los casetes de genoteca se diseñaron fuertemente sesgados para la distribución natural conocida de aminoácidos y siguiendo el concepto de las conformaciones de CDR canónicas establecidas por Allazikani (Allazikani y col., 1997). Sin embargo, a diferencia de los genes maestros de HuCAL®, el clon MS-Roche 7.12 contiene el aminoácido S en la posición 49 de la cadena VL (véase la tabla adjunta 1).

Los Fabs optimizados después de la primera ronda de maduración por afinidad mostraron características mejoradas sobre los clones MS-Roche-3, MS-Roche-7 y MS-Roche-8 de partida (Figura 4). Las afinidades de unión de los Fabs madurados a A β 1-40 y A β 1-42 se incrementaron significativamente produciendo valores K_D en el intervalo de 22-240 nM en comparación con 850-1.714 nM de los clones parentales (Tabla 3). El análisis de inmunohistoquímico de las placas de amiloide en secciones de cerebro con AD humano también mostró un perfil de tinción significativamente incrementado de los clones madurados, es decir, se obtuvieron mejores relaciones de señal y ruido de fondo y se detectó tinción de placa positiva a concentraciones relativamente bajas de los Fabs madurados (Figura 5).

Para más optimización, las regiones VH CDR2 y las regiones VL CDR1 de un conjunto de fragmentos de anticuerpo derivados de MS-Roche-3, -7, y -8 optimizados con L-CDR3 (tabla 1; figura 4) se optimizaron mediante mutagénesis de casete usando mutagénesis dirigida a trinucleótido (Virnekäs y col., 1994). Por lo tanto, se construyeron un casete de HCDR2 basado en trinucleótido y un casete de LCDR1 basado en trinucleótido usando un procedimiento de diseño idéntico al de los casetes de CDR3 descrito en Knappik y col., 2000. Los casetes de genoteca se diseñaron fuertemente sesgados para la distribución natural conocida de aminoácidos y siguiendo el concepto de las conformaciones de CDR canónicas establecidas por Allazikani (Allazikani y col., 1997). El protocolo usado para la optimización de los fragmentos de anticuerpo seleccionados iniciales mimetizarían el proceso de maduración por afinidad mediante hipermutación somática observada durante la respuesta inmune natural.

Las genotecas resultantes se someten a cribado por separado tal como se describió anteriormente conduciendo a clones optimizados o bien en la región H-CDR2 o en la L-CDR1. Todos los clones se identificaron como anteriormente por un k_{off} mejorado hacia fibras A β 1-40 después de una clasificación por k_{off} en el Biacore y mostraron afinidad mejorada o bien para A β 1-40 o A β -42 o ambos cuando se compararon con el correspondiente clon parental (Tabla 3). La Tabla 1 contiene las características de secuencia parentales, así como las secuencias de los clones optimizados. Las CDRs enumeradas se refieren al gen de anticuerpo basado en el consenso de HuCAL®

VH3kappa3.

5 Por ejemplo, la afinidad del Fab parental MS-Roche-7 hacia A β 1-40 se mejoró unas 35 veces desde 1.100 nM a 31 nM después de optimización con LCDR3 (MS-Roche-7.9) y se mejoró más a 5 nM después de optimización con H-CDR2 (MS-Roche-7.9H2) como se ilustra en la Tabla 3.

10 El procedimiento de optimización con HCDR2 y LCDR1 no solamente incrementó la afinidad sino también dio como resultado para algunos de los clones una tinción significativamente mejorada de placas de amiloide en la sección de cerebro con AD, como particularmente se ve con MS-Roche 7.9H2 y 7.9H3.

Tabla 1

Tabla 1

nombre ligante	L-CDR1	pos.49	L-CDR2	pos. 85	L-CDR3	H-CDR1	pos.47	H-CDR2	H-CDR3
MS-Roche n°3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQVYVPPV	GTFSSYAMS	W	AISGGGGSTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYVPP	GTFSSYAMS	W	AISGGGGSTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQIYSYPP	GTFSSYAMS	W	AISGGGGSTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQMSSYPP	GTFSSYAMS	W	AISGGGGSTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGGGGSTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.5	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGGGGSTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.6	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISGGGGSTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.2.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQIYSYPP	GTFSSYAMS	W	AISEHGLNIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.2.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQIYSYPP	GTFSSYAMS	W	AISQRGQFTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.3.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQMSSYPP	GTFSSYAMS	W	VISEKSRFIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.3.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQMSSYPP	GTFSSYAMS	W	VISQESQYKYIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.3.H3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQMSSYPP	GTFSSYAMS	W	AISQNGFHIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISSETSIKYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VIMVVGHTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.H3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISQTKRKYIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.H4	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISQTMHIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.H5	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISQVGAHIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.H6	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISESGWSTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.H7	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISQTKNIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.H8	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISEHGRFKYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.H9	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISESSKNIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.H10	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISESGRKYIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.H11	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISEFGKNIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.H12	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISQTKQNIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.H13	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISEQGRNIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV

nombre ligante	L-CDR1	pos.49	L-CDR2	pos. 85	L-CDR3	H-CDR1	pos.47	H-CDR2	H-CDR3
MS-Roche n°3.4.H14	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISESGQYKYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.H16	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISESGVNIYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.H17	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISEFGQFIYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.H18	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISQQSNFIYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.L7	RASQRLGRLYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.L8	RASQWITKSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.L9	RASRRIHYYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4.L11	RASQLVGRAYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.6.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	VISESGQYKYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.6.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	VISERGINITYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.6.H3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	VISETGKFIYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.6.H4	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISERGRHIYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.6.H5	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISESGKTKYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.6.H6	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISEHGNTIYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.6.H8	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISEYSKFKYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.6.L1	RASQFIQRFYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.6.L2	RASQFLSRYYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKVG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°7	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	FQLYSDPF	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGWRYF DV
MS-Roche n°7.1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQLYSSPY	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGWRYF DV
MS-Roche n°7.2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGWRYF DV
MS-Roche n°7.3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQVYSHPF	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKVG	GKGNTHKPYGWRYF DV

nombre ligante	L-CDR1	pos.49	L-CDR2	pos. 85	L-CDR3	H-CDR1	pos.47	H-CDR2	H-CDR3
MS-Rocher n°7.4	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQIYNFPH	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Rocher n°7.5	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	HQVYSSPF	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Rocher n°7.6	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQLYSPPY	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Rocher n°7.7	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	HQVYSAPF	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Rocher n°7.8	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQVYSFPI	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Rocher n°7.9	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Rocher n°7.10	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYNPPH	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Rocher n°7.11	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Rocher n°7.12	RASQYVSSPYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYGMS	W	NISSGSGSTYYADSVKKG	3KGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Rocher n°7.13	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQVYSPPF	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Rocher n°7.2.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINANGLKYYADSVKKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Rocher n°7.2.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINGTGMKYYADSVKKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Rocher n°7.2.H3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINANGYKTYADSVKKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Rocher n°7.2.H4	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINSKGSRIYADSVKKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV

nombre ligante	L-CDR1	pos.49	L-CDR2	pos. 85	L-CDR3	H-CDR1	pos.47	H-CDR2	H-CDR3
MS-Roche n°7.2.H5	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINATGRSKYYADSVKKG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Roche n°7.2.H6	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINARGNRRTYYADSVKKG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Roche n°7.2.H7	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINSRGSDTHYADSVKKG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Roche n°7.2.H8	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINASGHKTYADSVKKG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Roche n°7.2.L1	RASQYVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKKG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Roche n°7.2.L2	RASQYISFRYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKKG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Roche n°7.2.L4	RASQFIRRSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKKG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Roche n°7.3.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQVYSHPF	GTFSSYAMS	W	AISAINKTYADSVKKG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Roche n°7.3.L1	RASQYLHYGYLA	Y	GASSRAT	V	HQVYSHPF	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKKG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Roche n°7.4.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQIYNFPH	GTFSSYAMS	W	AINATGYRTYYADSVKKG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Roche n°7.4.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQIYNFPH	GTFSSYAMS	W	AINYNGARIYYADSVKKG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Roche n°7.9.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AINANGQRKFYADSVKKG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Roche n°7.9.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AINADGNRKYADSVKKG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Roche n°7.9.H3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AINYQGNRKYADSVKKG	GKGNTHKPYGVVRYF DV

nombre ligante	L-CDR1	pos.49	L-CDR2	pos. 85	L-CDR3	H-CDR1	pos.47	H-CDR2	H-CDR3
MS-Roche n°7.9.H4	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AINAVGMKKFYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Roche n°7.9.H5	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AINHAGNKYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Roche n°7.9.L1	RASQRLSPRYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Roche n°7.9.L2	RASQYLHKRYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Roche n°7.9.H6	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINARGNRTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Roche n°7.9.H7	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AINASGTRTYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Roche n°7.9.H8	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AINASGSKIYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Roche n°7.9.H9	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AINGKGNKKYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Roche n°7.11.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	GINAAGFRTYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Roche n°7.11.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Roche n°7.11.H3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	GINANGNRTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Roche n°7.11.H4	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	AINANGYKTYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Roche n°7.11.H5	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	AINAHGQRTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV
MS-Roche n°7.11.1_1	RASQRLIRIYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYF DV

nombre ligante	L-CDR1	pos.49	L-CDR2	pos. 85	L-CDR3	H-CDR1	pos.47	H-CDR2	H-CDR3
MS-Rocher n°7.12.H1	RASQYVFRRYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYGMS	W	NINGNGNRKYYADSVKGG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Rocher n°7.12.L1	RASQYVFRRYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYGMS	W	NISGSGSSTYYADSVKGG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Rocher n°7.12.L2	RASQRFYKYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYGMS	W	NISGSGSSTYYADSVKGG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Rocher n°7.12.L3	RASQFVRRGFLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYGMS	W	NISGSGSSTYYADSVKGG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Rocher n°7.12.L4	RASQRLKRSYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYGMS	W	NISGSGSSTYYADSVKGG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Rocher n°7.12.L5	RASQRLKRSYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYGMS	W	NISGSGSSTYYADSVKGG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Rocher n°7.12.L6	RASQLWYRYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYGMS	W	NISGSGSSTYYADSVKGG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Rocher n°7.12.L7	RASQWIRKTYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYGMS	W	NISGSGSSTYYADSVKGG	GKGNTHKPYGVVRYF DV
MS-Rocher n°8	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSSFPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKGG	LLSRGYNQYHKFDV
MS-Rocher n°8.1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSNYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKGG	LLSRGYNQYHKFDV
MS-Rocher n°8.2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSSYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKGG	LLSRGYNQYHKFDV
MS-Rocher n°8.1.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSNYPP	GTFSSYAMS	W	AISRSGSNIIYADSVKGG	LLSRGYNQYHKFDV
MS-Rocher n°8.2.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSSYPP	GTFSSYAMS	W	AISITGRRRKYADSVKGG	LLSRGYNQYHKFDV
MS-Rocher n°8.2.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSSYPP	GTFSSYAMS	W	AISRTGSKTYADSVKGG	LLSRGYNQYHKFDV
MS-Rocher n°8.2.H4	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSSYPP	GTFSSYAMS	W	ATSVKGTKTYADSVKGG	LLSRGYNQYHKFDV
MS-Rocher n°8.2.L1	RASQRYSGRYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSSYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKGG	LLSRGYNQYHKFDV

Secuencias que pertenecen a secuencias consensos HuCAL de VH3 y Vk3 véase Figura 1A

Ejemplo 6

Construcción de vectores de expresión de inmunoglobulina de HuCAL®

5 *Clonación de cadena pesada.* El sitio de clonación múltiple de pcDNA3.1+ (Invitrogen) se separó (*NheI/ApaI*), y se insertó una región de relleno (stuffer) compatible con los sitios de restricción usados para el diseño de HuCAL® para la ligación de las secuencias líder (*NheI/EcoRI*), dominios de VH (*MunI*), y las regiones constantes de inmunoglobulina (*BspI/ApaI*). La secuencia líder (EMBL 83133) se equipó con una secuencia Kozak (Kozak, 1997).
10 Las regiones constantes de la IgG humana (PIR A02146), IgG4 (EMBL K01316), e IgA1 de suero (EMBL J00220) se analizaron minuciosamente en los oligonucleótidos de superposición con longitud de aproximadamente 70 bases. Se introdujeron mutaciones silenciosas para separar los sitios de restricción no compatibles con el diseño HuCAL®. Los oligonucleótidos se sometieron a corte y empalme por PCR de extensión por superposición.

15 Durante la subclonación de Fab en IgG, se cortó la secuencia de ADN de VH del Fab por *MfeI/BspI* y se ligó en el vector de IgG abierto por *EcoRI/bopI*. *Eco I (g/aattc)* y *Mfe I (c/aattg)* comparten extremos cohesivos compatibles (aatt) y la secuencia de ADN del sitio *MfeI* original en los cambios de Fab: *c/aattg a: g/aattg* después de ligación en el vector de expresión de IgG, destruyendo de ese modo tanto el sitio *MfeI* como *EcoRI*, conduciendo así también a un cambio de aminoácido de Q (codón: caa) a E (codón: gaa).

20 *Clonación de cadena ligera.* El sitio de clonación múltiple de pcDNA3.1/Zeo+ (Invitrogen) se reemplazó por dos regiones de relleno diferentes. La región de relleno de κ proporcionó sitios de restricción para la inserción de un líder de κ (*NheI/EcoRV*), dominios de κ de HuCAL®-scFv (*EcoRV/BspI*), y la región constante de cadena κ (*BspI/ApaI*). Los correspondientes sitios de restricción en la región de relleno de λ eran *NheI/EcoRV* (λ -líder), *EcoRV/HpaI* (dominios de λ), y *HpaI/ApaI* (región constante de cadena λ). El líder de κ (EMBL Z00022) así como el
25 líder de λ (EMBL J00241) ambos se equiparon con secuencias Kozak. Las regiones constantes de la cadena κ (EMBL L00241) y la cadena λ humana (EMBL M18645) se ensamblaron mediante PCR de extensión por superposición como se describió anteriormente.

30 *Generación de células CHO que expresan IgG.* Las células CHO-K1 se sometieron a transfección conjunta con una mezcla equimolar de vectores de expresión de cadena pesada y ligera de IgG. Se seleccionaron transfectados doblemente resistentes con 600 $\mu\text{g/ml}$ de G418 y 300 $\mu\text{g/ml}$ de Zeocin (Invitrogen) seguido de dilución limitante. Se valoró la expresión de IgG en el sobrenadante de clones simples mediante ELISA de captura. Los clones positivos se desarrollaron en medio RPMI-1640 complementado con IgG-FCS ultra bajo al 10 % (Life Technologies). Después de ajustar el pH del sobrenadante a 8,0 y la filtración estéril, la solución se sometió a cromatografía en columna de proteína A estándar (Poros 20 A, PE Biosystems).
35

Ejemplo 7: Análisis Pepsipot con decapeptidos

40 La siguiente secuencia de aminoácidos que abarca A β (1-42) se dividió en 43 decapeptidos de superposición con un marco de lectura (frameshift) de 1 aminoácido. ISEVKM¹DAEF RHDSGYEVHH QKLVFFAEDV GSNKGAIIGL MVGGVVI⁴²ATV IV (SEQ ID NO: 414). Por consiguiente, DAEFRHDSGYEVHH QKLVFFAEDV GSNKGAIIGL MVGGVVIA (SEQ ID NO: 27) como se adjunta representa aminoácidos 1 a 42 del péptido A β 4/ β -A4.

45 Los 43 decapeptidos se sintetizaron con acetilación N-terminal y acoplamiento covalentes C-terminal a una lámina de celulosa ("pepsipot") de un proveedor comercial (Jerini BioTools, Berlín). La lámina de celulosa se incubó durante 2 horas sobre una plataforma de balanceo con anticuerpo monoclonal (2 $\mu\text{g/ml}$) en tampón de bloqueo (Tris HCl 50 mM, NaCl 140 mM, NaEDTA 5 mM, NP40 al 0,05 % (Fluka), gelatina al 0,25 % (Sigma), fracción V de albumina de suero bovina al 1 % (Sigma), pH 7,4). La lámina se lava 3 veces 3 minutos sobre una plataforma de balanceo con TBS (Tris HCl 10 mM, NaCl 150 mM, pH 7,5). A continuación, se mojó con tampón de cátodo (Tris base 25 mM, ácido 6-aminohexano 40 mM, SDS al 0,01 %, metanol al 20 %) y se transfirió a una pila de transferencia semi seca con el lado del péptido enfrentado a la membrana de PVDF (Biorad) de igual tamaño.
50

La pila de transferencia semi seca consiste fuera de los papeles frescamente mojados (Whatman nº 3) ligeramente más largos que la lámina peptídica:

55 3 papeles mojados con tampón cátodo
la lámina peptídica
una lámina de membrana de PVDF mojada con metanol
3 papeles mojados con tampón ánodo 1 (Tris base 30 mM, metanol al 20 %)
3 papeles mojados con tampón ánodo 2 (Tris base 0,3 mM, metanol al 20 %)

60 La transferencia se conduce en una densidad de corriente entre el cátodo y el ánodo de 0,8 mA/cm² durante 40 minutos que es suficiente para eluir la mayoría del anticuerpo de la lámina de celulosa y depositarlo sobre la membrana de PVDF. A continuación, la membrana de PVDF se intercambia por una segunda membrana de PVDF y se transfiere durante otros 40 minutos para asegurar la completa elución de la lámina de celulosa.

65 La membrana de PVDF se sumerge en tampón de bloqueo durante 10 minutos. A continuación, se añade anti-Ig H+L humano marcado con HRP (Pierce) en dilución 1:1.000 y la membrana se incubó sobre una plataforma de balanceo durante 1 hora. Se lava 3 veces 10 minutos con TBST (TBS con Tween20 al 0,005 %). El color se

desarrolla sumergiendo la membrana en una solución hecha de 3 mg de 4-cloronaftol disuelto en 9 ml de metanol con 41 ml de PBS (Na-fosfato 20 mM, NaCl 150 mM, pH 7.2) y 10 μ l de peróxido de hidrógeno al 30 % (Merck). Después del desarrollo de las manchas azul oscuras la membrana se lava exhaustivamente con agua y se seca.

5 La asignación de las manchas de péptido (pepspots) reactivas a anticuerpo se hace por inspección visual a través de una matriz de mancha transparente. Los epítomos del anticuerpo en cuestión se define como la secuencia de aminoácidos mínima en péptidos reactivos. Por comparación se analizaron anticuerpos monoclonales de ratón (BAP-2, BAP-1, BAP-17, BAP-21, BAP-24 y 4G8) del mismo modo, excepto usando anti-Ig de ratón marcado con HRP en lugar de anti-Ig humano.

10 Cabe señalar que la maduración por afinidad y la conversión de los fragmentos Fab monovalentes en los anticuerpos IgG1 de longitud completa normalmente da como resultado alguna ampliación de la secuencia de reconocimiento del epítomo como se indica por el análisis pepspot y ELISA. Esto se puede referir al reclutamiento de más puntos de contacto en el área de interacción anticuerpo-antígeno como consecuencia de la maduración por afinidad o a una unión más fuerte al epítomo mínimo de modo que también se pueden detectar las interacciones débiles con aminoácidos adyacentes. Esto puede ser la causa cuando se sondan los péptidos derivados de A β con anticuerpos IgG de longitud completa. Tal como se ilustra en la Tabla 2 para el análisis pepspot, las secuencias de reconocimiento de los epítomos N-terminales y medios se alargan por hasta tres aminoácidos cuando se comparaban Fabs parentales y correspondientes anticuerpos IgG completamente madurados. Sin embargo, hay que tener en mente que los decapeptidos son modificados por acoplamiento covalente en el aminoácido C-terminal y este aminoácido, por lo tanto, no puede ser fácilmente accesible al anticuerpo de longitud completa debido al impedimento estérico. Si este es el caso, el último aminoácido C-terminal no contribuye significativamente a la secuencia de reconocimiento de epítomo y hay que considerar una reducción potencial de la secuencia de reconocimiento mínimo por un aminoácido en el extremo C-terminal en el análisis pepspot como se usa en la presente invención.

25 Tabla 2: Análisis pepspot de la unión de Fabs y anticuerpos IgG de longitud completa a decapeptidos sobre una lámina de celulosa. Los números se refieren a los aminoácidos esenciales de la secuencia de A β 1-40 que tienen que estar presentes en el decapeptido para la unión óptima del anticuerpo. Una reactividad de péptido débil, y así una contribución débil al epítomo, está indicada entre paréntesis.

30

Anticuerpo	Posición	Posición
MSR-3 Fab	3-4	18-23
MSR-7 Fab	3-5	19-24
MSR-8 Fab	4-5	18-21
MSR-9 Fab	(1)3-9	18-24
MSR-10 Fab	(4-10)	19-20
MSR-11 Fab	3-7	(18-20)
MSR-26 Fab	3-5	(16)-19-23
MSR-27 Fab	(3)6-9	13-18(20)
MSR-29 Fab		14-16(20)
MSR-37 Fab	(4-6)	(19-24)
MSR-41 Fab	3-7	(17-21)
MSR-42 Fab	(4-9)	(18-24)
MSR 3.4H7 IgG1	1-3	19-26
MSR 7.9H2 IgG1	1-4	19-24
MSR 7.9H7 IgG1	4-6	19-26
MSR 7.2H2x7.2L IgG1	(1-4) 5-9	18-26
MSR 7.11.H1x7.2L1 IgG1	4-6	19-26
BAP-2	4-6	
4G8		19-20(23)
BAP-21		32-34
BAP-24		38-40
BAP-1	4-6	
BAP-17		38-40

Ejemplo 8: Determinación de los valores K_D para MS-R Fab y anticuerpo MS-R IgG1 que se unen a fibras de A β 1-40 y A β 1-42 *in vitro* por resonancia por plasmón superficial (SPR)

35 Se midió la unión de anticuerpos anti-A β (Fabs e IgG1) a A β fibrilar en línea por resonancia por plasmón superficial (SPR), y se determinaron las afinidades de las interacciones moleculares como se describe en Johnson, *Anal. Biochem.* 1991, 198, 268-277, y Richalet-Sécordel, *Anal. Biochem.* 1997, 249, 164-173. Se usaron instrumentos Biacore2000 y Biacore3000 para estas mediciones. Se generaron fibras A β 1-40 y A β 1-42 *in vitro* por incubación de péptidos sintéticos a una concentración de 200 μ g/ml en tampón de Na-acetato 10 mM (pH 4,0) durante tres días a 40 37 °C. El análisis microscópico de electrones confirmó una estructura fibrilar para ambos péptidos, A β 1-40 que

muestra fibras predominantemente más cortas (<1 micra) y Aβ1-42 predominantemente más largas (<1 micra). Estas fibras se asumen que representan péptidos Aβ agregados en cerebro AD humano mejor que las mezclas definidas enfermas de agregados amorfos y precipitados no estructurados. Las fibras se diluyeron 1:10 y se acoplaron directamente a un "Chip Sensor F1 Pioneer" como se describe en el Manual de Instrucciones del fabricante (BIAApplication Handbook, versión AB, Biacore AB, Uppsala, 1998). En experimentos iniciales se encontró que los MS-Roche Fabs seleccionados diferían básicamente en sus cinéticas de reacción y, por lo tanto, el modo de análisis de datos tenía que elegirse en consecuencia. Para ligantes con valores K_D de cinéticas lentas se calcularon por ajuste de curva de las respuestas del sensor dependientes del tiempo, es decir, a partir de la relación k_{off}/k_{on} . Los ligantes con cinéticas rápidas se analizaron ajustando las respuestas del sensor dependientes de concentración en equilibrio (adsorción-isotermas). Los valores K_D se calcularon a partir de los sensogramas Biacore basados en la concentración total de Fab determinada por un ensayo de proteína. Para los clones derivados del 1° y 2° ciclo de maduración por afinidad el contenido de Fab activo en cada preparación se determinó en el Biacore según un método descrito por Christensen, *Analytical Biochemistry* (1997) 249, 153-164. En resumen, se midió la unión de proteína dependiente del tiempo a fibras de Aβ1-40 inmovilizadas en el chip de Biacore durante la fase de asociación bajo condiciones limitadas por masa a diferentes caudales de la solución de analito. Las condiciones de limitación por masa se realizaron inmovilizando altas cantidades de fibras Aβ (2.300 unidades de respuesta) sobre la superficie del chip de un canal de medición y funcionando a concentraciones de analito relativamente bajas, es decir, 160 nM (basado en la concentración total de proteína Fab).

En la tabla 3 se muestra un compendio de los valores K_D de los clones MS-Roche seleccionados identificados en el cribado primario de la genoteca HuCAL y sus correspondientes derivados madurados después del 1° y 2° ciclo de maduración por afinidad. En el 1° ciclo de maduración por afinidad la CDR3 de la cadena pesada (VH-CD3) se mantuvo constante y la optimización se centró en la diversificación de la CDR3 de la cadena ligera (VL-CDR3). En el 2° ciclo de afinidad se realizó la diversificación de VL-CDR1 y VH-CDR2. Algunos de los ligantes del 1° ciclo de maduración se convirtieron en anticuerpos IgG1 humanos de longitud completa según la tecnología desarrollada por MorphoSys como se describe en el Ejemplo 6 y valores K_D determinados en el Biacore como se describió anteriormente. Los valores K_D para la unión de IgG1 de longitud completa a fibras de Aβ1-40 y fibras de Aβ42 se muestran en la Tabla 4.

Se identificaron derivados madurados de tanto la genoteca de L-CDR1, así como de H-CDR2 después del 2° ciclo de maduración y se permitió la combinación de cadenas ligeras y pesadas. La estrategia de clonación cruzada se describe en el Ejemplo 13. Una de las cadenas ligeras completas, LCDR1 o L-CDR1+2 se intercambiaron. Los valores K_D de Fabs de clonación cruzada seleccionados se muestran en la Tabla 8.

Algunos de los Fabs del 1° y 2° ciclo de maduración y de los ligantes de clonación cruzada se convirtieron en anticuerpos IgG1 humanos de longitud completa según la tecnología desarrollada por MorphoSys como se describe en el Ejemplo 6. Los valores K_D de la unión de IgG a fibras de Aβ1-40 y Aβ1-42 se determinaron en el Biacore. En resumen, se usó un modelo cinético para la formación paso a paso de un complejo bivalente, y se calcularon los valores K_D por análisis tipo Scatchard de unión en equilibrio. Debido al proceso de asociación muy lento a baja concentración de anticuerpo (varias horas para alcanzar el equilibrio) los datos de unión en equilibrio se obtuvieron por extrapolación de las curvas de asociación para largos intervalos de tiempo. Los índices on y off para la formación del complejo monovalente y bivalente se determinaron por el procedimiento de ajuste de curva y se usó para la extrapolación. En base a estos valores de R_{eq} se realizó un análisis Scatchard y se determinaron los valores K_D para la formación del complejo monovalente y el bivalente. Los datos se resumen en la Tabla 5. A partir del trazo de Scatchard curvilíneo se derivó una mayor (bivalente) y menor (monovalente) interacción por afinidad para las MS-R IgGs del 2° ciclo de maduración por afinidad y clones cruzados. Estas dos afinidades representan los valores K_D inferiores y superiores del intervalo indicado en la Tabla 5.

Tabla 3

Tabla 3: valores K_D para la unión de MS-R Fab a fibras de Aβ1-40 y Aβ1-42 determinados en el Biacore. Para los clones derivados del 1° y 2° ciclo de maduración por afinidad los valores se corrigen para el contenido de Fab activo presente en cada muestra como se describe en el texto. ^a, los valores se calcularon a partir de las respuestas de sensor dependientes de concentración en equilibrio; n.d., no determinado.

Clones secretados de	MS-R N°	K_D	K_D	MS-R N°	K_D	K_D	MS-R N°	K_D	K_D
		Aβ ₁₋₄₀ nM	Aβ ₁₋₄₂ nM		Aβ ₁₋₄₀ nM	Aβ ₁₋₄₂ nM		Aβ ₁₋₄₀ nM	Aβ ₁₋₄₂ nM
cribado primario	3	930	1.300	7	1.100	1.714	8	850	1.000
	3.2	52	240	7.2	22	58	8.1	24	42
maduración por afinidad	3.3	38	104	7.3	23	88	8.2	24	64
	3.4	32	103	7.4	28	103			
	3.6	40	68	7.9	31	93			
				7.11	22	74			
				7.12	28	60			

Clones secretados de	MS-R N°	K _D		MS-R N°	K _D		MS-R N°	K _D	
		Aβ ₁₋₄₀ nM	Aβ ₁₋₄₂ nM		Aβ ₁₋₄₀ nM	Aβ ₁₋₄₂ nM		Aβ ₁₋₄₀ nM	Aβ ₁₋₄₂ nM
2° maduración por afinidad	3.2H1	4,4	3,3	7.2H1	9,3	10,2	8.1H1	13,6	9,2
	3.2H2	5,2	1,1	7.2H2	8,2	8,2	8.2H1	1,6 ^a	2,1 ^a
	3.3H1	17,1	19,4	7.2H3	45,4	5,3	8.2H3	n.d.	3,1
	3.3H2	10,6	22,8	7.2H4	5,9	5,0	8.2H4	12,1	11,9
	3.3H3	1,4	3,3	7.2H5	8,0	10,1	8.2L1	4,8	3,7
	3.4H1	13,5	14,0	7.2H6	1,0	n.d.			
	3.4H3	6,7	8,4	7.2H7	15,5	8,1			
	3.4H4	33,0	43,0	7.2H8	1,5	2,1			
	3.4H5	26,5	36,0	7.2L1	13,3	12,7			
	3.4H6	49,0	60,0	7.2L2	5,6	4,0			
	3.4H7	19,2	31,7	7.2L4	1,1	1,1			
	3.4H8	10,7	26,5	7.3H1	8,0	11,2			
	3.4H9	21,7	18,6	7.3L1	4,5	6,0			
	3.4H10	8,1	10,1	7.4H1	8,0	6,6			
	3.4H11	19,5	8,3	7.4H2	9,9	6,2			
	3.4H12	25,5	27,0	7.9H1	4,9	5,4			
	3.4H13	32,3	18,8	7.9H2	5,0	5,7			
	3.4H14	13,3	16,8	7.9H3	4,2	2,8			
	3.4H16	25,5	15,6	7.9H4	4,8	4,2			
	3.4H17	2,0	4,3	7.9H5	1,7	1,8			
	3.4H18	17,1	10,0	7.9H6	1,2	1,2			
	3.4L7	9,3	9,3	7.9H7	1,0	0,9			
	3.4L8	6,2	13,0	7.9H8	0,8	0,7			
	3.4L9	16,3	9,1	7.9H9	0,9	0,9			
	3.4L11	5,3	2,6	7.9L1	1,0	1,1			
	3.6H1	18,9	23,1	7.9L2	1,0	0,5			
	3.6H2	19,8	54,0	7.11H1	12,7	6,7			
	3.6H3	5,4	7,5	7.11H2	0,3	0,3			
	3.6H4	13,0	7,8	7.11H3	6,6	4,4			
	3.6H5	8,2	6,0	7.11H4	1,0	1,7			
	3.6H6	36,0	11,8	7.11H5	3,4	1,7			
	3.6H8	2,5	2,5	7.11L1	1,1	1,2			
3.6L1	15,6	11,1	7.12H1	0,6	0,8				
3.6L2	13,7	13,1	7.12L1	n.d.	3,8				
			7.12L2	4,0	5,4				
			7.12L3	0,8	0,9				
			7.12L4	2,0	0,6				
			7.12L5	0,8	0,6				
			7.12L6	n.d.	n.d.				
			7.12L7	n.d.	n.d.				

Tabla 4:

- 5 Tabla 4: valores K_D para la unión de MS-R IgG1 a fibras de Aβ₁₋₄₀ y Aβ₁₋₄₂ determinados en el Biacore. Los IgGs se derivaron de MS-R Fabs seleccionados después del 1° ciclo de maduración por afinidad. Los valores se corrigen para el contenido de MS-R IgGs activos presentes en cada muestra como se describe en el texto.

MS-R N°	K _D Aβ ₁₋₄₀ nM	K _D Aβ ₁₋₄₂ nM
3.3 IgG1	3,7	6,6
7.11 IgG1	2,3	5,7
7.12 IgG1	3,1	13,7
8.1 IgG1	6,6	12,3

- 10 Tabla 5: valores K_D para la unión de MS-R IgG1 a fibras de Aβ₁₋₄₀ y Aβ₁₋₄₂ determinados en el Biacore. Los IgGs se derivaron de MS-R Fabs seleccionados después del 1° y 2° ciclo de maduración por afinidad y de Fabs de clonación cruzada. Los valores se corrigen para el contenido de MS-R IgGs activos presentes en cada muestra como se describe en el texto. Los dos valores K_D se dan para MS-R IgGs derivados de la 2° etapa de maduración por afinidad y ligantes de clonación cruzada representan interacción por afinidad superior e inferior calculada a partir de los trazos de Scatchard curvilíneos. Con un número de MS-R IgGs adicionales (por ejemplo, MSR IgG
- 15

7.9H2x7.12L2 y MS-R IgG 7.9H4x7.12L2), se obtuvieron representaciones de Scatchard curvilíneas complejas y, por lo tanto, la determinación de los valores K_D no fue posible.

Clones seleccionados de	MS-R IgG1	K_D A β ₁₋₄₀ nM	K_D A β ₁₋₄₂ nM
1º maduración por afinidad	3.3	3,7	6,6
	7.11	2,3	5,7
	7.12	3,1	13,7
	8.1	6,6	12,3
2º maduración por afinidad	3.4H7	0,10-0,30	0,10-0,30
	7.2H4	0,09-0,30	0,10-0,66
	7.9H2	0,12-0,42	0,11-0,38
	7.9H3	0,10-0,50	0,10-0,40
	7.9H7	0,25-0,69	0,24-0,70
	7.12L1	1,20-3,50	0,74-2,90
Fabs de clonación cruzada	8.2H2	0,16-1,00	0,12-0,92
	3.6H5x3.6L2	0,20-1,03	0,20-0,95
	3.6H8x3.6L2	0,22-0,95	0,22-0,82
	7.4H2x7.2L1	0,12-0,63	0,12-0,56
	7.11H1x7.2L1	0,14-0,66	0,15-0,67
	7.11H1x7.11L1	0,11-0,70	0,13-0,70

- 5 Ejemplo 9: Tinción de placas de amiloide humanas genuinas en secciones de cerebro de un paciente con la enfermedad de Alzheimer por inmunofluorescencia indirecta

Se ensayaron MS-Roche Fabs seleccionados e IgG1 de longitud completa para la unión a placas de β -amiloide por análisis de inmunohistoquímica. Se marcaron secciones se criostato de tejido no fijado del córtex temporal humano (obtenido postmortem de un paciente al que se diagnosticó positivamente para la enfermedad de Alzheimer) por inmunofluorescencia indirecta usando MS-Roche Fabs o anticuerpos IgG1 humanos de longitud completa a diversas concentraciones. Fabs y anticuerpos IgG1 se revelaron por anti-fragmento F(ab')₂ purificado por afinidad humano de cabra conjugado con Cy3 y anti- (H+L) humano de cabra conjugado con Cy3, respectivamente. Ambos reactivos secundarios se obtuvieron de Jackson Immuno Research. Los controles incluyeron un Fab no relacionado y los anticuerpos secundarios solos, todos los cuales dieron resultados negativos. En las figuras 5 a 7 se muestran ejemplos típicos de tinciones de placa con MS-Roche Fabs seleccionados y anticuerpos MS-Roche IgG1.

Ejemplo 10: Ensayo de polimerización: Prevención de la agregación de A β

20 El A β sintético cuando se incuba en tampón acuoso durante varios días se agrega espontáneamente y forma estructuras fibrilares que son similares a las vistas en depósitos de amiloide en los cerebros de pacientes con la enfermedad de Alzheimer. Los inventores han desarrollado un ensayo *in vitro* para medir la incorporación de A β biotilado en los agregados A β preformados para analizar el potencial neutralizador de A β de anticuerpos anti-A β y otras proteínas de unión a A β tales como albumina (Bohrmann y col., 1999, *J. Biol. Chem.* 274, 15.990-15.995). El efecto de las pequeñas moléculas sobre la agregación de A β también se puede analizar en este ensayo.

Procedimiento experimental:

30 Se recubren placas de microtitulación Maxisorb NUNC (MTP) con una mezcla 1:1 de A β ₁₋₄₀ y A β ₁₋₄₂ (2 μ M cada uno, 100 μ l por pocillo) a 37 °C durante tres días. Bajo estas condiciones se adsorbe A β fibrilar altamente agregado y se inmoviliza sobre la superficie del pocillo. A continuación, se elimina la solución de recubrimiento y las placas se secan a temperatura ambiente durante 2-4 horas. (Las placas secas se almacenaron a -20 °C). Los sitios de unión residuales se bloquean añadiendo 300 μ l/pocillo de disolución salina tamponada con fosfato que contiene Tween20 al 0,05 % (T-PBS) y albúmina de suero bovino al 1 % (BSA). Después de 1-2 horas de incubación a temperatura ambiente las placas se lavan una vez con 300 μ l de T-PBS. Se añade una solución de A β ₁₋₄₀ biotilado 20 nM en Tris-HCl 20 mM, NaCl 150 mM pH 7,2 (TBS) que contiene NaN₃ al 0,05 % y anticuerpo diluido en serie (100 μ l/pocillo) y la placa se incuba a 37 °C durante la noche. Después de lavar tres veces con 300 μ l de T-PBS se añade (100 μ l/pocillo) un conjugado de estreptavidina-POD (Roche Molecular Biochemicals), diluida 1:1.000 en T-PBS que contiene BSA al 1 %, y se incuba a temperatura ambiental durante 2 horas. Los pocillos se lavan tres veces con T-PBS y se añaden 100 μ l/pocillo de una solución de tetrametil-bencidina (TMB) frescamente preparada. [Preparación de la solución TMB: 10 ml de ácido cítrico 30 mM pH 4,1 (ajustado con KOH) + 0,5 ml de TMB (12 mg de TMB en 1 ml de acetona + 9 ml de metanol) + 0,01 ml de H₂O₂ al 35 %]. La reacción se para añadiendo 100 μ l/pocillo de H₂SO₄ 1 N la absorbancia se lee a 450 nm en un lector de placa de microtitulación.

45

Resultado:

La Figura 8 muestra que los anticuerpos MS-Roche IgG1 previnieron la incorporación de A β 1-40 biotinilado en agregados A β 1-40/A β 1-42 preformados. La capacidad neutralizadora de A β de estos IgGs humanos de longitud completa era similar a la del anticuerpo monoclonal de ratón BAP-1 que se había generado por un procedimiento de inmunización estándar y específicamente reconoce residuos de aminoácidos 4-6 del péptido A β cuando se analizan por la técnica Pepsot como se describe en el ejemplo 7. El anticuerpo monoclonal de ratón BAP-2 que también reacciona exclusivamente con los aminoácidos 4-6 (Brockhaus, no publicado) era significativamente menos activo en este ensayo. Se encontró una actividad incluso menor con el anticuerpo específico C-terminal de A β 1-40 BAP-17 (Brockhaus, Neuroreport 9 (1998), 1.481-1.486) y el anticuerpo monoclonal 4G8 que reconoce un epítipo entre la posición 17 y 24 en la secuencia de A β (Kim, 1988, *Neuroscience Research Communication*, Vol. 2, 121-130). BSA a una concentración de hasta 10 μ g/ml no afectó a la incorporación de A β biotinilado y sirvió como control negativo. Sin embargo, a concentraciones mayores, es decir, > 100 μ g/ml, se ha informado que BSA inhibe la unión de A β biotinilado en fibras A β preformadas (Bohrmann, (1999) *J. Biol. Chem.* 274 (23), 15990-5) indicando que la interacción de BSA con A β no es de alta afinidad.

Ejemplo 11: Ensayo de despolimerización: Liberación de A β biotinilado desde el A β agregado

En un montaje experimental similar los inventores han ensayado el potencial de anticuerpos MS-Roche IgG para inducir la despolimerización de A β agregado. A β 1-40 biotinilado se incorporó primero en fibras A β 1-40/A β 1-42 preformadas después del tratamiento con diversos anticuerpos anti-A β . La liberación de A β biotinilado se midió usando el mismo ensayo que el descrito en el ensayo de polimerización.

Procedimiento experimental:

Se recubrieron placas de microtitulación NUNC Maxisorb (MTP) con una mezcla 1:1 de A β 1-40 y A β 1-40 como se describe en el ensayo de polimerización. Para la incorporación de A β biotinilado las placas recubiertas se incubaron con 200 μ l/pocillo de A β 1-40 biotinilado 20 nM en TBS que contiene NaN₃ al 0,05 % a 37 °C durante la noche. Después de lavar la placa con 3 x 300 μ l/pocillo de T-PBS, se añadieron anticuerpos diluidos en serie en TBS que contenía NaN₃ al 0,05 % y se incubaron a 37 °C durante 3 horas. La placa se lavó y se analizó para la presencia de A β 1-40 biotinilado como se describió anteriormente.

Resultado:

Las Figuras 9A a D muestran que los anticuerpos de la invención indujeron la despolimerización de A β agregado cuando se midió por la liberación de A β 1-40 biotinilado. Los anticuerpos MS-R y el anticuerpo monoclonal de ratón BAP-1 eran igualmente activos mientras que los anticuerpos BAP-2, BAP-17 y 4G8 eran claramente menos eficaces en la liberación de A β biotinilado de la masa de agregados de A β inmovilizados. BAP-1 claramente se puede diferenciar de los anticuerpos MS-R por su reactividad con APP de longitud completa de la superficie celular (véase Figura 15), y anticuerpos como BAP-1 con tales propiedades no son útiles para las aplicaciones terapéuticas ya que se pueden inducir reacciones autoinmunitarias potenciales. Es interesante señalar que BAP-2, a pesar de su especificidad para el residuo de aminoácidos 4-6 que está expuesto en A β agregado tiene una actividad claramente menor en este ensayo indicando que no todos los anticuerpos específicos al terminal N, a priori, son igualmente eficaces en la liberación de A β de los agregados preformados. Los MS-Roche IgGs son claramente superiores a BAP-2 con respecto a la actividad de despolimerización. La eficacia relativamente baja de BAP-17 (específico al terminal C) y 4G8 (específico a residuos de aminoácidos 16-24) en este ensayo se debe a la naturaleza crítica de estos dos epítopos en A β agregado. Tal como ya se señaló en el ensayo de polimerización, BSA a las concentraciones usadas en el presente documento no tenía efecto sobre el A β agregado.

Los anticuerpos MS-R derivados del 2º ciclo de maduración por afinidad y de los ligantes de clonación cruzada muestran en general una eficacia superior en el ensayo de despolimerización (comparación de la figura 9A con las figuras 9B y C), que es consecuente con la afinidad de unión incrementada de estos anticuerpos (véase tablas 3-5). Se ha informado que los anticuerpos monoclonales AMY-33 y 6F/3D previenen la agregación de A β *in vitro* bajo ciertas condiciones experimentales (Solomon, (1996), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 452-455; anticuerpos AMY-33 y 6F/3D se obtuvieron de Zymed Laboratories Inc., San Francisco (nº de pedido 13-0100) y Dako Diagnostics AG, Zug, Suiza (nº de pedido M087201), respectivamente). Tal como se demuestra en la figura 9D ambos anticuerpos eran completamente inactivos en el ensayo de despolimerización.

Ejemplo 12: Análisis de epítipo por ELISA sobre conjugados de péptido.

Los siguiente heptapéptidos (código de letra única) se obtuvieron por síntesis en fase sólida y se purificaron por cromatografía líquida usando las técnicas conocidas en la técnica.

AEFRHDC
 EFRHDSC
 FRHDSGC
 RHDSGYC
 HDSGYEC
 DSGYEVC
 SGYEVHC
 YEVHHQC
 EVHHQKC
 VHHQKLC
 HHQKLVC
 HQKLVFC
 QKLVFFC
 KLVFFAC
 LVFFAEC
 VFFAEDC
 FFAEDVC
 FAEDVGC
 AEDVGSC
 EDVGSNC
 DVGSNKC
 VGSNKGK
 GSNKGAC
 CSNKGAI
 CNKGAI
 CKGAIIG
 CGLMVGG
 CMVGGVV
 CGGVVIA

Los péptidos se disolvieron en DMSO para llegar a una concentración de 10 mM.

5 Se disolvió albúmina bovina (esencialmente BSA libre de ácido graso, Sigma Lot 112F-9390) a 10 mg/ml en bicarbonato de sodio 0,1 M y se activaron mediante adición por ml de 50 µl de una solución de 26 mg/ml de N-succinimidil-maleinimida propionato (NSMP, Pierce) en DMSO. Después de 15 minutos de reacción a temperatura ambiente la BSA activada se purificó mediante filtración en gel (NAP-10, Pharmacia) en PBS con ácido de sodio al 0,1 % como disolvente. Se diluyó 50 µl de BSA activada por NSMP (6,7 mg/ml) con 50 µl de PBS, ácido de sodio al 0,1 % y se añadió 10 µl de solución de péptido (1 mM en DMSO). Como control negativo se trató BSA activada como simulacro sin adición de péptido. Después de 4 horas a temperatura ambiente la reacción se paró por adición de 10 µl de Cisteína 10 mM. Se diluyó 1:100 una alícuota de la mezcla de reacción de conjugado con tampón de bicarbonato de sodio 0,1 M e inmediatamente se rellenó en los pocillos (100 µl) de placas ELISA (Inmunoplatea Nunc). Después de reposar 16 horas a 4 °C, se añadieron 100 µl de tampón de bloqueo (como anteriormente) a cada pocillo y se incubaron durante otros 30 minutos. Las placas se lavaron con 2 x 300 µl/pocillo de TBST (como anteriormente) y se rellenaron con 100 µl de anticuerpo a 10 µg/ml o 2 µg/ml en tampón de bloqueo. Las placas se dejaron reposar durante 16 horas a 4 °C y se lavaron con 2x300 µl de TBST. Se añadieron 100 µl/pocillo de anti-Ig H+L humano conjugado con HRP (Pierce, dilución 1:1.000 con tampón de bloqueo) y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavaron con 3x300 µl/pocillo de TBST. El desarrollo de color se comenzó por la adición de 100 µl de reactivo de tetrametil bencidina/peróxido de hidrógeno. La reacción se paró después de 5 minutos por la adición de 100 µl/pocillo de ácido sulfúrico 1M y la densidad óptica se midió por un lector óptico (Microplate Reader 3550, BioRad) a 450 nm. Por comparación se analizaron los anticuerpos monoclonales de ratón del mismo modo, excepto que se usó como agente revelador anti-Ig de ratón marcado con HRP en lugar de anti-Ig humano.

30 Empleando específicos de los heptapéptidos anteriormente descritos derivados de Aβ, se llevaron a cabo ensayos ELISA específicos como se describieron anteriormente en el presente documento. Preferentemente, los anticuerpos de la invención comprenden anticuerpos que muestran, cuando se mide mediante las densidades ópticas, una relación señal y ruido de fondo aproximadamente de "10" cuando su reactividad con un péptido derivado A-beta (AEFRHD; aminoácidos 2 a 7 de A-beta) se compara con una proteína/péptido no relacionado como BSA. Lo más preferentemente, la relación de las densidades ópticas es aproximadamente de "5" para una correspondiente reacción con al menos uno de los siguiente tres péptidos derivados Aβ: (VFFAED; aminoácidos 18 a 23 de Aβ) o

(FFAEDV; aminoácidos 19 a 24 de Aβ) o (LVFFAE; aminoácidos 17 a 22 de Aβ).

Los resultados correspondientes para los anticuerpos parentales y/o madurados de la invención se muestran en las siguientes dos tablas:

- 5 Tabla 6: Reactividad de MS-R Fabs con heptapéptidos 2-7 (AEFRHD), 17-22 (LVFFAE), 18-23 (VFFAED) and 19-24 (FFAEDV) de Abeta conjugados con BSA. Se dan las relaciones de la lectura de ELISA (densidad óptica) obtenida con BSA conjugada con péptido y no conjugada. También se indican las intensidades de señal obtenidas con los péptidos 17-22, 18-23 y 19-24 en relación con el péptido 2-7.

MS-R N°	Péptido 2-7 2-7/BSA	Péptido 17-22 17-22/BSA	Péptido 18-23 18-23/BSA	Péptido 19-24 19-24/BSA	Relación de péptido 17-22/2-7	Relación de péptido 18-23/2-7	Relación de péptido 19-24/2-7
7	24	4	7	4	0,17	0,29	0,17
8	28	10	29	25	0,36	1,04	0,89
7.2	34	12	16	9	0,35	0,47	0,26
7.3	34	11	15	9	0,32	0,44	0,26
7.4	36	10	13	6	0,28	0,36	0,17
7.9	28	9	13	8	0,32	0,46	0,29
7.11	37	11	15	9	0,30	0,41	0,24
7.12	38	6	8	7	0,16	0,21	0,18
8.1	30	1	11	8	0,03	0,37	0,27
8.2	32	4	28	23	0,13	0,88	0,72
3.2H2	26	12	23	20	0,46	0,88	0,77
3.3H1	23	4	12	8	0,17	0,52	0,35
3.3H3	31	2	5	2	0,06	0,16	0,06
3.4H1	27	2	8	2	0,07	0,30	0,07
3.4H2	16	11	1	1	0,69	0,06	0,06
3.4H3	22	9	17	11	0,41	0,77	0,50
3.4H5	28	5	13	4	0,18	0,46	0,14
3.4H7	24	2	6	5	0,08	0,25	0,21
3.4H17	28	5	12	11	0,18	0,43	0,39
3.4L11	31	6	20	5	0,19	0,65	0,16
3.6H6	25	1	4	7	0,04	0,16	0,28
3.6H1	23	3	13	5	0,13	0,57	0,22
3.6H2	19	2	8	3	0,11	0,42	0,16
7.2H1	38	8	11	9	0,21	0,29	0,24
7.2H2	16	10	10	10	0,63	0,63	0,63
7.2H3	33	17	20	18	0,52	0,61	0,55
7.2H4	23	12	13	12	0,52	0,57	0,52
7.2H5	30	13	18	15	0,43	0,60	0,50
7.2L1	24	14	16	11	0,57	0,68	0,45
7.4H1	31	16	20	16	0,52	0,65	0,51
7.4H2	36	17	20	16	0,47	0,56	0,46
7.9H1	32	7	12	6	0,23	0,36	0,19
7.9H2	35	3	6	8	0,08	0,16	0,23
7.9H3	35	11	20	9	0,31	0,57	0,27
7.9H4	30	10	15	7	0,32	0,49	0,22
7.11H1	31	8	9	8	0,25	0,29	0,25
7.11H2	34	10	12	14	0,29	0,36	0,41
7.12L1	16	10	12	10	0,60	0,70	0,59
8.1H1	29	22	25	25	0,77	0,88	0,86
8.2H1	22	7	23	20	0,34	1,05	0,94
8.2L1	26	15	32	31	0,60	1,26	1,22

Tabla 7: Reactividad de MS-R IgGs y anticuerpos monoclonales de ratón BAP-1, BAP-2, 4G8, 6E10 Amy-33 y 6F/3D con heptapéptidos 2-7 (AEFRHD), 17-22 (LVFFAE), 18-23 (VFFAED) and 19-24 (FFAEDV) de A β conjugados con BSA. Se dan las relaciones de la lectura de ELISA (densidad óptica) obtenidas con BSA conjugada con péptido y no conjugada. También se indican las intensidades de señal obtenidas con los péptidos 17-22, 18-23 y 19-24 en relación con el péptido 2-7. * este anticuerpo es específico para la secuencia 8-17 y no reconoce secuencias de epítipo N-terminales y medio.

MS-R IgG N°	AEFRHD 2-7/BSA	LVFFAE 17-22/BSA	VFFAED 18-23/BSA	FFAEDV 19-24/BSA	Relación de péptido 17-22/2-7	Relación de péptido 18-23/2-7	Relación de péptido 19-24/2-7
3.3	17	11	16	11	0,65	0,94	0,65
7.12	19	11	13	11	0,58	0,68	0,58
8.1	16	7	16	14	0,44	1,00	0,88
3.4H7	22	3	16	15	0,14	0,73	0,68
7.9H2	13	5	8	6	0,38	0,62	0,46
7.9H3	13	6	8	6	0,46	0,62	0,46
7.9H7	30	5	16	10	0,17	0,53	0,33
7.11H2	10	6	7	6	0,60	0,70	0,60
8.2H2	18	10	15	14	0,56	0,83	0,78
3.6H5x3.6L2	11	7	9	8	0,64	0,82	0,73
7.11H2x7.9L1 (L1)	14	8	10	9	0,57	0,71	0,64
8.2H2x8.2L1	13	20	25	25	1,54	1,92	1,92
mab de ratón							
BAP-1	21	1	1	1	0,05	0,05	0,05
BAP-2	21	1	1	1	0,05	0,05	0,05
4G8	1	23	20	1	23	20	1
6E10	18	1	1	1	0,06	0,06	0,06
6F/3D*	1	1	1	1	1	1	1
Amy 33	16	2	1	3	0,13	0,06	0,19

Ejemplo 13: Combinación de H-CDR2 y L-CDR1 optimizadas por clonación cruzada

El diseño modular de la genoteca HuCAL permite el intercambio de regiones determinantes de complementariedad (CDRs) de dos genes diferentes codificadores de Fab en una etapa de clonación simple. Para una mejora adicional de la afinidad se combinaron las H-CDR2 y L-CDR1 independientemente optimizadas de clones madurados con la misma H-CDR3, debido a que había una alta probabilidad de que esta combinación condujera a una ganancia adicional de afinidad (Yang y col., 1995, *J. Mol. Biol.* 254, 392-403; Schier y col., 1996b, *J. Mol. Biol.* 263, 551-567; Chen y col., 1999, *J. Mol. Biol.* 293, 865-881). Cadenas ligeras completas, o fragmentos de las mismas, se transfirieron desde un clon donante optimizado L-CDR1 a un clon receptor optimizado H-CDR2. Los clones donantes y receptores solamente se combinaron, si ambos llevaban idénticas secuencias de H-CDR3. Todos los clones donantes y receptores llevaban la región estructural VH3-Vk3.

Esto se consiguió transfiriendo las cadenas ligeras completas desde el clon donante optimizado L-CDR1 al clon receptor optimizado H-CDR2. La especificidad de epítipo se conservó combinando solamente clones con la misma H-CDR3. Mediante el intercambio de cadena ligera un clon optimizado H-CDR2 obtuvo solamente una L-CDR1 optimizada, si el intercambio se daba entre los clones con la misma L-CDR3. Si la L-CDR3 de los clones a combinar era diferente, el clon optimizado H-CDR2 adquiriría además de la L-CDR1 optimizada otra L-CDR3 (L-CDR2 mantenía la secuencia consenso de HuCAL (Knappik y col., 2000)) y cuando se usaron los derivados de MS-Roche N° 7.12 como donantes de la cadena ligera L-CDR1, 2 y 3 se intercambiaron en el clon receptor optimizado H-CDR2. Se emplearon tres estrategias de clonación diferentes:

1) Usando endonucleasas de restricción XbaI y SphI se escindió el fragmento completo de cadena ligera de anticuerpo del plásmido 1 (por ejemplo, pMx9_Fab_MS-Roche n°7.11H1_FS) y de ese modo la cadena principal del vector obtenido se ligó, a continuación, al fragmento de cadena ligera del plásmido 2 (por ejemplo, pMx9_Fab_MS-Roche n°7.2L1_FS) generado por digestión por XbaI y SphI. De ese modo se creó un nuevo plásmido (nomenclatura: pMx9_Fab_MS-Roche n°7.11H1x7.2L1_FS) codificando L-CDR1, 2, 3 del clon parental n°7.2L1 y H-CDR1, 2, 3 del clon parental n°7.11H1.

2) Usando endonucleasas de restricción XbaI y Acc651 se escindió un fragmento codificador de L-CDR1 del plásmido 1 (por ejemplo, pMx9_Fab_MS-Roche n°7.11H2_FS) y de ese modo la cadena principal del vector obtenido se ligó, a continuación, al fragmento de L-CDR1 del plásmido 2 (por ejemplo, pMx9_Fab_MS-Roche n°7.12L1_FS) generado por XbaI y Acc651. De ese modo se creó un nuevo plásmido (nomenclatura: pMx9_Fab_MS-Roche n°7.11H2x7.12L1 (L-CDR1)_FS) codificando L-CDR1 del clon parental n°7.12L1 mientras

que L-CDR2, 3 y H-CDR1, 2, 3 se derivan del clon parental nº 7.11H2.

5 3) Usando endonucleasas de restricción XbaI y BamHI se escindió un fragmento codificador de L-CDR1 y L-CDR2 del plásmido 1 (por ejemplo, pMx9_Fab_MS-Roche nº7.11H2_FS) y de ese modo la cadena principal del vector obtenido se ligó, a continuación, al fragmento de L-CDR1 y L-CDR2 del plásmido 2 (por ejemplo, pMx9_Fab_MS-Roche nº7.12L1_FS) generado por digestión por XbaI y BamHI. De ese modo se creó un nuevo plásmido (nomenclatura: pMx9_Fab_MS-Roche nº7.11H2x7.12L1 (L-CDR1+2)_FS) codificando L-CDR1 y L-CDR2 del clon parental nº7.2L1 mientras que L-CDR3 y H-CDR1, 2, 3 se derivan del clon parental nº7.11H2.

10 En la tabla 8 se dan ejemplos ilustrativos para las diferentes estrategias de clonación, así como para clones donantes y receptores de secuencias.

15 Después de la expresión y purificación a gran escala sus afinidades se determinaron sobre fibras A β (1-40). Además, en la Tabla adjunta 9 se dan los valores K_D para los MS-R Fab/anticuerpos de clonación cruzada seleccionados.

nombre ligante	L-CDR1	pos.49	L-CDR2	pos. 85	L-CDR3	H-CDR1	pos.47	H-CDR2	H-CDR3
----------------	--------	--------	--------	---------	--------	--------	--------	--------	--------

estrategia de clonación 1) ↓

MS-Roche n°7.11.H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	GINAAGFRITYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.2.L1	RASQYVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYFPH	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.11.H1x7.2.L1	RASQYVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYFPH	GTFSSYAMS	W	GINAAGFRITYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV

estrategia de clonación 2) ↓

MS-Roche n°7.11.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.12.L1	RASQYVFRRYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYGMS	W	NISGSGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n° 7.11.H2x7.12.L1(LCDR1)	RASQYVFRRYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV

estrategia de clonación 3) ↓

MS-Roche n°7.11.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.12.L1	RASQYVFRRYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYGMS	W	NISGSGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGYVRYFDV

MS-Roche n° 7.1.1.H2x7.12.L1(LCDR1+2)		RASQVFRYYLA	S	GSSNRAT	T	QQVYSPPH	GFTFSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV
nombre ligante	L-CDR1	pos.49	L-CDR2	pos. 85	L-CDR3	H-CDR1	pos.47	H-CDR2	H-CDR3	
MS-Roche n°3.6H5	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYP	GFTFSYAMS	W	AISESGTKYYADSVKG	LTHYARYRYFDV	
MS-Roche n°3.6L2	RASQFLSRYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYP	GFTFSYAMS	W	AISGGSTYYADSVKG	LTHYARYRYFDV	
MS-Roche n°3.6H5x3.6L2	RASQFLSRYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYP	GFTFSYAMS	W	AISESGTKYYADSVKG	LTHYARYRYFDV	
MS-Roche n°3.6H8	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYP	GFTFSYAMS	W	AISEYSKFKYYADSVKG	LTHYARYRYFDV	
MS-Roche n°3.6L2	RASQFLSRYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYP	GFTFSYAMS	W	AISGGSTYYADSVKG	LTHYARYRYFDV	
MS-Roche n°3.6H8x3.6L2	RASQFLSRYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYP	GFTFSYAMS	W	AISEYSKFKYYADSVKG	LTHYARYRYFDV	
MS-Roche n°7.4.H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQIYNFPH	GFTFSYAMS	W	AINYNGARIYYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV	
MS-Roche n°7.2.L1	RASQYVDRITYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GFTFSYAMS	W	AISGGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV	
MS-Roche n°7.4.H2x7.2.L1	RASQYVDRITYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GFTFSYAMS	W	AINYNGARIYYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV	
MS-Roche n°7.9H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GFTFSYAMS	W	AINADGNRKYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV	
MS-Roche n°7.12L2	RASQRFFKYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSYGMS	W	NISGGSSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV	
MS-Roche n°7.9H2x7.12L2	RASQRFFKYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSYAMS	W	AINADGNRKYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV	
MS-Roche n°7.9H4	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GFTFSYAMS	W	AINAVGMKKFYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV	
MS-Roche n°7.12.L2	RASQRFFKYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSYGMS	W	NISGGSSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV	
MS-Roche n°7.9H4x7.12L2	RASQRFFKYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSYAMS	W	AINAVGMKKFYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV	

MS-Roche n°7.11H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	GINAAGFRTYYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV
MS-Roche n°7.11L1	RASQRILRIYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV
nombre ligante	L-CDR1	pos.49	L-CDR2	pos. 85	L-CDR3	H-CDR1	pos.47	H-CDR2	H-CDR3
MS-Roche n°7.11H1x7.11L1	RASQRILRIYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	GINAAGFRTYYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV
MS-Roche n°7.11H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	GINAAGFRTYYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV
MS-Roche n°7.2L1	RASQYVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYFPH	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV
MS-Roche n°7.11H1x7.2L1	RASQYVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYFPH	GTFSSYAMS	W	GINAAGFRTYYADSVKG	GKGNTHKPYGVRYFDV
MS-Roche n°3.3H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	HQMSYPP	GTFSSYAMS	W	VISEKSRFIYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4L9	RASRRIHVYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.3H1x3.4L9	RASRRIHVYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISEKSRFIYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISETSIRKIYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4L9	RASRRIHVYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4H1x3.4L9	RASRRIHVYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISETSIRKIYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4H3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISQTGRKIYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4L7	RASQRLGRLYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4H3x3.4L7	RASQRLGRLYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISQTGRKIYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4H3	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISQTGRKIYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4L9	RASRRIHVYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4H3x3.4L9	RASRRIHVYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISQTGRKIYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4H7	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISETGKNIYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4L9	RASRRIHVYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGSTYYADSVKG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4H7x3.4L9	RASRRIHVYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	VISETGKNIYYADSVKG	LTHYARYRYFDV

MS-Roche n°3.4H7	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	MISETGKNIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.4L7	RASQRLGRLYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
nombre ligante	L-CDR1	pos.49	L-CDR2	pos. 85	L-CDR3	H-CDR1	pos.47	H-CDR2	H-CDR3
MS-Roche n°3.4H7x3.4L7	RASQRLGRLYLA	Y	GASSRAT	T	QQTYDYPP	GTFSSYAMS	W	MISETGKNIYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.6H5	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISESGTKYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.6L1	RASQFIQRFYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°3.6H5x3.6L1	RASQFIQRFYLA	Y	GASSRAT	V	QQTYNYPP	GTFSSYAMS	W	AISESGTKYYADSVKGG	LTHYARYRYFDV
MS-Roche n°7.2H2	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINGTGMKKYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.2L1	RASQYVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.2H2x7.2L1	RASQYVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINGTGMKKYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.4H2	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	V	QQIYNFPH	GTFSSYAMS	W	AINYNGARIYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.12L2	RASQRFFYKYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYGMS	W	NISGSGSTYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.4H2x7.12L2	RASQRFFYKYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GTFSSYAMS	W	AINYNGARIYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.9H2	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AINADGNRKYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.2L1	RASQYVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.9H2x7.2L1	RASQYVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINADGNRKYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.11H2	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQVYSPPH	GTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.2L1	RASQYVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.11H2x7.2L1	RASQYVDRTYLA	Y	GASSRAT	T	QQIYSFPH	GTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.9H2	RASQVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	LQIYNMPI	GTFSSYAMS	W	AINADGNRKYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV

MS-Roche n°7.12L1	RASQYVFRYYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSSYGMS	W	NISGSGSSTYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.9H2x7.12L1	RASQYVFRYYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSSYAMS	W	AINADGNRKYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
nombre ligante	L-CDR1	pos.49	L-CDR2	pos. 85	L-CDR3	H-CDR1	pos.47	H-CDR2	H-CDR3
MS-Roche n°7.11H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQWYSPPH	GFTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.9L1	RASQRLSPRYLA	Y	GASSRAT	T	LQYINMPI	GFTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.11H2x7.9L1	RASQRLSPRYLA	Y	GASSRAT	T	LQYINMPI	GFTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°8.1H1	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSNYP	GFTFSSYAMS	W	AISRSGSNYYADSVKGG	LLSRGNYGYYHKFDV
MS-Roche n°8.2L1	RASQRYSGRYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSYPP	GFTFSSYAMS	W	AISGSGGSTYYADSVKGG	LLSRGNYGYYHKFDV
MS-Roche n°8.1H1x8.2L1	RASQRYSGRYLA	Y	GASSRAT	T	QQLSYPP	GFTFSSYAMS	W	AISRSGSNYYADSVKGG	LLSRGNYGYYHKFDV
MS-Roche n°7.11H2	RASQSVSSSYLA	Y	GASSRAT	T	QQWYSPPH	GFTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.12L1	RASQYVFRYYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSSYGMS	W	NISGSGSSTYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV
MS-Roche n°7.11H2x7.12L1	RASQYVFRYYLA	S	GSSNRAT	V	LQLYNIPN	GFTFSSYAMS	W	AINANGYKYYADSVKGG	GKGNTHKPYGYVRYFDV

Tabla 8. Las flechas indican la localización de los sitios de enzima de restricción usados para digerir los correspondientes plásmidos.

Tabla 9: Valores K_D para la unión de MS-R Fab de clonación cruzada a fibras de A β 1-40 y A β 1-42 determinados en el Biacore. La preparación de Fabs de clonación cruzada está descrita en el ejemplo 13. Los valores K_D se determinaron por ajustes de la curva cinética y se corrigieron para el contenido de Fab activo presente en cada muestra como se describe en el texto. Algunos de los Fabs se purificaron adicionalmente por cromatografía de exclusión por tamaño o ultracentrifugación preparativa para separar el material agregado. (L1), el clon aceptor madurado H-CDR2 recibió solamente L-CDR1 del clon donante mejorado L-CDR1; (L1+2), el clon aceptor madurado H-CDR2 recibió L-CDR1+2 del clon donante mejorado L-CDR1.

MS-R N°	K_D A β 1-40 nM	K_D A β 1-42 nM
3.3H1x3.4L9	2,16	2,97
3.4H1x3.4L9	0,25	0,5
3.4H3x3.4L7	0,92	0,92
3.4H3x3.4L9	1,05	0,93
3.4H7x3.4L9	2,66	3,51
3.4H7x3.4L7	1,19	1,23
3.6H5x3.6L1	1,25	1,04
3.6H5x3.6L2	1,26	0,84
7.2H2x7.2L1	1,29	1,43
7.4H2x7.2L1	1,4	1,4
7.4H2x7.12L2	1,4	1,8
7.9H2x7.2L1(L1)	1,4	1,4
7.9H2x7.12L1	1,2	1,1
7.9H2x7.12L2(L1+2)	0,4	0,4
7.11H1x7.2L1	1,75	1,39
7.11H1x7.11L1	0,41	0,47
7.11H2x7.2L1(L1)	1	0,6
7.11H2x7.9L1(L1)	0,1	1
8.1H1x8.2L1	1,3	1,6

10 Ejemplo 14: Decoración de placa de amiloide *in vivo* en un modelo de ratón de enfermedad de Alzheimer cuando se reveló por microscopía de barrido láser confocal y análisis de colocalización

Se ensayaron anticuerpos MS-R IgG1 seleccionados en ratones transgénicos doble de APP/PS2 (Referencia: Richards y col., *Soc. Neurosci. Abstr.*, Vol. 27, Programa n° 5.467, 2001) para la decoración de placa de amiloide *in vivo*. Los anticuerpos (1 mg/ratón) se administraron *in vivo* y después de 3 días los cerebros se perfundieron con solución salina y se prepararon para criosección. En otro estudio los ratones se expusieron a mayores concentraciones de los anticuerpos, es decir, 2 mg inyectados *in vivo* el día 0, 3 y 6, y se sacrificaron el día nueve. La presencia de los anticuerpos unidos a las placas de amiloide se valoró sobre secciones de criostato no fijadas mediante la inmunofluorescencia indirecta doblemente marcada usando anti-IgG (H+L) humano de cabra conjugado a cualquier Cy3 (N°109-165-003, Jackson Immuno Research) seguido de inmunoconjugado BAP-2-Alexa488. La imagen se hizo por microscopía láser confocal y el procesamiento de la imagen para la detección cuantitativa de colocalizaciones por el programa informático IMARIS y COLOCALIZATION (Bitplane, Suiza). En las Figuras 10-14 se muestran ejemplos típicos. Todos los anticuerpos MS-R ensayados se encontraron positivos en inmunodecoración de placas de amiloide *in vivo*, aunque se indicó alguna variabilidad.

25 Ejemplo 15: Investigación de la unión de diferentes anticuerpos monoclonales a proteína precursora de amiloide (APP) sobre la superficie de las células HEK293

30 APP se expresa ampliamente en el sistema nervioso central. La unión del anticuerpo a APP de la superficie celular puede conducir a activación del complemento y destrucción celular en áreas de cerebro sanas. Por lo tanto, es obligatorio para los anticuerpos A-beta terapéuticos estar desprovisto de reactividad hacia APP. Los anticuerpos de alta afinidad frente al dominio N-terminal de A-beta (por ejemplo, BAP-1, BAP-2) reconocen el respectivo epítipo también en la región estructural de APP. Por el contrario, los anticuerpos frente al epítipo medio (por ejemplo, AG8), y los anticuerpos de la invención sorprendentemente son incapaces de reconocer la APP de superficie celular. Por 35 tanto, los anticuerpos de la invención que decoran A-beta, pero no APP *in vivo*, son superiores a los anticuerpos no selectivos.

40 El método de citometría de flujo es bien conocido en la técnica. Las unidades relativas de fluorescencia (FL1-H) medidas por citometría de flujo indican unión superficial celular del anticuerpo respectivo. Un cambio de fluorescencia sobre HEK293 sometidas a transfección con APP comparado con células HEK293 no sometidas a transfección indica la reacción indeseada con APP de superficie celular. Como ejemplo, anticuerpos BAP-1 y BAP-2 frente al dominio N-terminal muestran un cambio significativo de la señal FL-1 en HEK293/APP (línea gruesa) comparado con las células HEK293 no sometidas a transfección (línea punteada). El anticuerpo 4G8 (específico para el epítipo A-beta medio) y todos los anticuerpos de la invención (específico para epítipos A-beta N-terminales

y medios) muestran cambio no significativo en fluorescencia. Las diferencias en la fluorescencia basal entre las células HE293/APP y HEK293 son debidas a diferente tamaño celular. Se usó un instrumento FACScan en combinación con el paquete del programa informático Cellquest Pro (ambos de Becton Dickinson).

5 Ejemplo 16: Lista de SEQ ID NOs identificadas en relación con las moléculas de anticuerpo de la invención

La tabla adjunta 10 se refiere a secuencias como se definen en el presente documento para algunas moléculas de anticuerpo de la invención específicas.

10 Tabla 10: Identificación de SEQ ID NOs para anticuerpos parentales, así como moléculas de anticuerpo optimizadas, maduras y/o de clonación cruzada

N Molécula	VH Prot	VL Prot	VH ADN	VL ADN	HCDR3 Prot	HCDR3 ADN	LCDR3 Prot	LCDR3 ADN
3	4	10	3	9	22	21	16	15
7	6	12	5	11	24	23	18	17
8	8	14	7	13	26	25	20	19
3.6H5 x 3.6L2	33	47	32	46	61	60	75	74
3.6H8 x 3.6L2	35	49	34	48	63	62	77	76
7.4H2 x 7.2L1	37	51	36	50	65	64	79	78
7.9H2 x 7.12L2	39	53	38	52	67	66	81	80
7.9H4 x 7.12L2	41	55	40	54	69	68	83	82
7.11H1x7.11L1	43	57	42	56	71	70	85	84
7.11H1x7.2L1	45	59	44	58	73	72	87	86
7.9H7	89	91	88	90	93	92	95	94
3.3H1x3.4L9	295	325	294	324	355	354	385	384
3.4H1x3.4L9	297	327	296	326	357	356	387	386
3.4H3x3.4L7	299	329	298	328	359	358	389	388
3.4H3x3.4L9	301	331	300	330	361	360	391	390
3.4H7x3.4L9	303	333	302	332	363	362	393	392
3.4H7x3.4.7	305	335	304	334	365	364	395	394
3.6H5x3.6L1	307	337	306	336	367	366	397	396
7.2H2x7.2L1	309	339	308	338	369	368	399	398
7.4H2x7.12L2	311	341	310	340	371	370	401	400
7.9H2x7.2L1	313	343	312	342	373	372	403	402
7.9H2x7.12L1	315	345	314	344	375	374	405	404
7.11H2x7.2L1	317	347	316	346	377	376	407	406
7.11H2x7.9L1	319	349	318	348	379	378	409	408
7.11H2x7.12L1	321	351	320	350	381	380	411	410
8.1H1x8.2L1	323	353	322	352	383	382	413	412

Además, la invención proporciona los siguientes puntos:

- 15 1. Una molécula de anticuerpo capaz de reconocer específicamente dos regiones de péptido de β -A4/A β 4, en donde la primera región comprende la secuencia de aminoácidos AEFRHDSGY como se muestra en SEQ ID NO: 1 o un fragmento de la misma y en donde la segunda región comprende la secuencia de aminoácidos VHHQKLVFFAEDVG como se muestra en SEQ ID NO: 2 o un fragmento de la misma.
- 20 2. La molécula de anticuerpo del punto 1, en donde dicha molécula de anticuerpo reconoce al menos dos aminoácidos consecutivos dentro de las dos regiones de β -A4.
- 25 3. La molécula de anticuerpo del punto 1 o 2, en donde dicha molécula de anticuerpo reconoce en la primera región una secuencia de aminoácidos que comprende: AEFRHD, EF, EFR, FR, EFRHDSG, EFRHD o HDSG y en la segunda región una secuencia de aminoácidos que comprende: HHQKL, LV, LVFFAE, VFFAED o VFFA, FFAEDV.
- 30 4. La molécula de anticuerpo de uno cualquiera de los puntos 1 a 3, en donde dicha molécula de anticuerpo comprende una región VH variable codificada por una molécula de ácidos nucleicos como se muestra en una SEQ ID NO seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 3, 5 o 7 o una región VH variable como se muestra en una SEQ ID NO seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NOs: 4, 6 o 8.
- 35 5. La molécula de anticuerpo de uno cualquiera de los puntos 1 a 3, en donde dicha molécula de anticuerpo comprende una región VL variable codificada por una molécula de ácidos nucleicos como se muestra en una SEQ ID NO seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 9, 11 y 13 o una región VL variable como

se muestra en una SEQ ID NO seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NOs: 10, 12 y 14.

5 6. La molécula de anticuerpo de uno cualquiera de los puntos 1 a 5, en donde dicha molécula de anticuerpo comprende al menos una CDR3 de una región VL codificada por una molécula de ácidos nucleicos como se muestra en SEQ ID NOs: 15, 17 o 19 o al menos una secuencia de aminoácidos de CDR3 de una región VL como se muestra en SEQ ID NO: 16, 18 o 20 y/o en donde dicha molécula de anticuerpo comprende al menos una CDR3 de una región VH codificada por una molécula de ácidos nucleicos como se muestra en SEQ ID NOs: 21, 23 o 25 o al menos una secuencia de aminoácidos de CDR3 de una región VH como se muestra en SEQ ID NOs: 22, 24 o 26.

10 7. La molécula de anticuerpo de uno cualquiera de los puntos 1 a 6, en donde dicho anticuerpo se selecciona entre el grupo que consiste en MSR-3, -7 y -8 o una versión madurada por afinidad de MSR-3, -7 o -8.

15 8. La molécula de anticuerpo de uno cualquiera de los puntos 1 a 7, en donde dicha molécula de anticuerpo es un anticuerpo completo (inmunoglobulina), un fragmento F(ab), un fragmento F(ab)₂, un anticuerpo de cadena simple, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo injertado con CDR, una construcción de anticuerpo bivalente, un anticuerpo sintético o un anticuerpo de clonación cruzada.

20 9. La molécula de anticuerpo de uno cualquiera de los puntos 1 a 8, en donde dicha al menos dos regiones de β-A4 forman un epítipo conformacional o un epítipo discontinuo.

10. La molécula de anticuerpo del punto 8 o 9, en donde dicho anticuerpo de clonación cruzada se selecciona entre el grupo que consiste en:

25 MS-R N°3.3H1x3.4L9;
MS-R N°3.6H5 x 3.6L2;
MS-R N°3.6H8 x 3.6L2;
MS-R N°7.4H2 x 7.2L1;
MS-R N°7.9H2 x 7.12L2;
30 MS-R N°7.9H4 x 7.12L2;
MS-RN°7.11H1 x 7.11L1;
MS-R N°7.11H1x 7.2L1;
MS-R N°3.4H1 x 3.4L9;
MS-R N°3.4H3 x 3.4L7;
35 MS-R N°3.4H3 x 3.4L9;
MS-R N°3.4H7 x 3.4L9;
MS-R N°3.4H7 x 3.4L7;
MS-R N°3.6H5 x 3.6L1;
MS-R N°7.2H2 x 7.2L1;
40 MS-R N°7.4H2 x 7.12L2;
MS-R N°7.9H2 x 7.2L1;
MS-R N°7.9H2 x 7.12L1;
MS-R N°7.11H2 x 7.2L1;
MS-R N°7.11H2 x 7.9L1;
45 MS-R N°7.11H2 x 7.12L1 o
MS-R N°8.1H1 x 8.2L1.

50 11. Una molécula de ácidos nucleicos que codifica una molécula de anticuerpo de uno cualquiera de los puntos 1 a 10.

12. Un vector que comprende la molécula de ácidos nucleicos del punto 11.

13. Una célula hospedadora que comprende el vector del punto 12.

55 14. Un método para la preparación de una molécula de anticuerpo de uno cualquiera de los puntos 1 a 10 que comprende cultivar la célula hospedadora del punto 13 bajo condiciones que permiten la síntesis de dicha molécula de anticuerpo y recuperar dicha molécula de anticuerpo de dicho cultivo.

60 15. Una composición que comprende una molécula de anticuerpo de uno cualquiera de los puntos 1 a 10 o una molécula de anticuerpo producida por el método del punto 14.

16. La composición del punto 15, que es una composición farmacéutica o una composición de diagnóstico.

65 17. El uso de una molécula de anticuerpo de uno cualquiera de los puntos 1 a 10 o una molécula de anticuerpo producida por el método del punto 14, de una molécula de ácidos nucleicos del punto 11, de un vector del punto 12 o un hospedador del punto 13 para la preparación de una composición farmacéutica para la prevención y/o

tratamiento de una enfermedad asociada con amiloidogénesis y/o formación de placa de amiloide.

18. El uso de una molécula de anticuerpo de uno cualquiera de los puntos 1 a 10 o una molécula de anticuerpo producida por el método del punto 14 para la preparación de una composición de diagnóstico para la detección de una enfermedad asociada con amiloidogénesis y/o formación de placa de amiloide.

19. El uso de una molécula de anticuerpo de uno cualquiera de los puntos 1 a 10 o una molécula de anticuerpo producida por el método del punto 14 para la preparación de una composición farmacéutica para la desintegración de placas de amiloide.

20. El uso de una molécula de anticuerpo de uno cualquiera de los puntos 1 a 10 o una molécula de anticuerpo producida por el método del punto 14 para la preparación de una composición farmacéutica para la inmunización pasiva frente a la formación de placa de β -amiloides.

21. El uso de los puntos 17 o 18, en donde dicha enfermedad es demencia, enfermedad de Alzheimer, neuropatía motora, síndrome de Down, enfermedad de Creutzfeldt Jacob, hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis tipo holandés, enfermedad de Parkinson, demencia relacionada con VIH, ELA o trastornos neuronales relacionados con la edad.

22. Kit que comprende una molécula de anticuerpo de uno cualquiera de los puntos 1 a 10, una molécula de ácidos nucleicos del punto 16, un vector del punto 17 o una célula hospedadora del punto 18.

23. Un método para la optimización de una molécula de anticuerpo como se define en uno cualquiera de los puntos 1 a 10 que comprende las etapas de:

(a) construcción de una genoteca de fragmentos de anticuerpo Fab diversificados derivados de un anticuerpo que comprende al menos una CDR3 de una región VH codificada por una molécula de ácidos nucleicos como se muestra en SEQ ID NOs: 21, 23 o 25 o al menos una secuencia de aminoácidos de CDR3 de una región VH como se muestra en SEQ ID NOs: 22, 24 o 26.

(b) ensayo de la genoteca de optimización de Fab resultante por inmovilización frente a $A\beta$ / $A\beta$ 4;

(c) identificación de clones optimizados; y

(d) expresión de clones optimizados seleccionados.

24. El método del punto 23 comprendiendo además una etapa (ca), por la cual los clones optimizados se optimizan más por mutagénesis de casete.

25. El método del punto 23 o 24, en donde dicho $A\beta$ / $A\beta$ 4 en la etapa (b) es $A\beta$ / $A\beta$ 4 agregado.

26. El método de uno cualquiera de los puntos 23 a 25, en donde dicha identificación en la etapa (c) se lleva a cabo por clasificación por K_{off} .

27. Un método para la preparación de una composición farmacéutica que comprende las etapas de:

(a) optimización de un anticuerpo según el método de uno cualquiera de los puntos 23 a 26; y

(b) formulación de anticuerpo/molécula de anticuerpo optimizado con un vehículo fisiológicamente aceptable.

28. Una composición farmacéutica preparada por el método del punto 27.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> F. Hdefmann-La Roche AG MorphoSys AG

<120> Anticuerpos anti-A-beta y su uso

<130> F 2842 EP/1 S3

<140> EP 02003844.4

<141> 20-02-2002

<150> EP 02003844.4

<151> 20-02-002

<160> 414

<170> PatentIn versión 3.1

ES 2 590 684 T3

5 <210> 1
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética; primera region de péptido beta-A4

10 <400> 1

Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr
 1 5

15 <210> 2
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética; segunda region de péptido beta-A4

20 <400> 2

Val His His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly
 1 5 10

25 <210> 3
 <211> 368
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Construcción sintética; región VH de MS-RocheN.º3

<400> 3

cagggtgcaat tggcggaaaag cggcggcgcc cagggtgcaac cggcggcgag cctgcgctctg 60
 agcgcgcggg cctcgggatt tacctttagc agctatgcga tgagctgggt gcgcacaagcc 120
 cctgggaagg gtctcgagtg gctgagcgcg attagcggta gcggcggcag cacctattat 180
 ggggatagcg tgaagggcgc ttftaccatt tcacgtgata attcgaaaaa caccctgtat 240
 ctgc aaatga acagcctgcg tgcgggaagat acggcctgtc attattgcgc gcgtcttact 300
 cattatgctc gttattatcg ttattttgat gtttggggcc aaggcaccct ggtgacggtt 360
 agctcagc 368

35

40 <210> 4
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética; región VH de MS-RocheN.º3

45 <400> 4

ES 2 590 684 T3

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

5 <210> 5
 <211> 379
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética; región VH de MS-RocheN.º7
 <400> 5

cagggtgcaat tgggtgaaag eggcggcggc ctggtgcaac cgggocggcag cctgctctg 60
 agctgocggg cctccggatt tacctttagc agctatgcga tgagctgggt gcgccaagcc 120
 cctgggaagg gtctcgagtg ggtgagcgcg attagcggta gcggocggcag cacctattat 180
 gcggatagcg tgaaaggcog ttaccattt cacgtgataa ttogaaaaac accctgtatc 240
 tgcaaatgaa cagcctgcgt gcggaagata cggccgtgta ttattgcgcg cgtggtaagg 300
 gtaatactca taagccttat ggttatgttc gttattttga tgattggggc caaggcacc 360
 tggtgacggg tagctcagc 379

15 <210> 6
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética; región VH de MS-RocheN.º7

ES 2 590 684 T3

<400> 6

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

5 <210> 7
 <211> 374
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética; región VH de MS-RocheN.º8

<400> 7

caggtgcaat tgggtgaaaag cggcgggcggc ctggtgcaac cggcgggcag cctgogtctg 60
 agctgogcgg cctcoggatt taccttttagc agctatgcga tgagctgggt gogccaagcc 120
 cctgggaagg gtctcgagtg ggtgagcgcg attagcggta gcggcggcag cacctattat 180
 gcggatagcg tgaaaggccg ttttaccatt tcacgtgata attcgaaaaa cacocgtgat 240
 ctgcaaatga acagocctgcg tgcggaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtcttctt 300
 tctcgtgggtt ataatggtta ttatcataag tttgatgttt ggggccaagg caccctgggtg 360
 acggttagct cagc 374

15 <210> 8
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20

ES 2 590 684 T3

<220>

<223> Construcción sintética; región VH de MS-RocheN.º8

5

<400> 8

```

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
          20           25           30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
          35           40           45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50           55           60

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

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

Ala Arg Leu Leu Ser Arg Gly Tyr Asn Gly Tyr Tyr His Lys Phe Asp
          100          105          110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115          120
    
```

<210> 9

10

<211> 330

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

15

<223> Construcción sintética; región VL de MS-RocheN.º3

<400> 9

```

gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgagacc      60
ctgagctgca gagcgagcca gagcgtgagc agcagctatc tggcgtggta ccagcagaaa      120
ccaggtaaac caccgcgtct attaatattt ggcgcgagca gccgtgcaac tgggggtccc      180
gcgcgtttta gcggctctgg atccggcacg gatatttacc tgaccattag cagcctggaa      240
cctgaagact ttgcggttta ttattgccag caggtttata atcctcctgt tacctttggc      300
cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg                                     330
    
```

20

<210> 10

<211> 110

<212> PRT

ES 2 590 684 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Construcción sintética; región VL de MS-RocheN.º3

5

<400> 10

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Tyr Asn Pro Pro
85 90 95

Val Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

10 <210> 11

<211> 330

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

15

<220>

<223> Construcción sintética; región VL de MS-RocheN.º7

<400> 11

gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt etccgggoga acgtgcgacc 60

ctgagctgca gagcgagcca gagcgtgagc agcagctatc tggcgtggta ccagcagaaa 120

ccaggtcaag caccgcgtct attaatattat ggcgcgagca gccgtgcaac tggggtcccg 180

gocgctttta gcggtctctg atccggcagc gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240

cctgaagact ttgcgactta ttattgcttt cagctttatt ctgacccctt tacctttggc 300

cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

20

<210> 12

<211> 110

<212> PRT

25

<213> Secuencia Artificial

ES 2 590 684 T3

<220>

<223> Construcción sintética; región VL de MS-RocheN.º7

<400> 12

5

```

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20           25           30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35           40           45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
50           55           60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
65           70           75           80

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

Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100          105          110
    
```

<210> 13

<211> 330

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética; región VL de MS-RocheN.º8

<400> 13

15

```

gatatcgtgc tgaccacagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcga acgtgcgacc      60
ctgagctgca gagcagacca gagcgtgagc agcagctatc tggcgtggta ccagcagaaa      120
ccagggtcaag caccgcgtct attaatttat ggcgcgagca gccgtgcaac tgggggtcccg      180
gcgcgtttta ggcgctctgg atccggcaag gattttaccc tgaccattag cagcctggaa      240
cctgaagact ctgcgactta ttattgccaag cagctttott cttttcctcc tacctttggc      300
cagggtacga aggttgaat taaacgtacg                                     330
    
```

20

<210> 14

<211> 110

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

ES 2 590 684 T3

<220>
 <223> Construcción sintética; región VL de MS-RocheN.º8

5 <400> 14

```

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

  Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
                               20                               25                               30

  Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
                               35                               40                               45

  Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
                               50                               55                               60

  Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
  65                               70                               75                               80

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

  Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
                               100                              105                              110
  
```

10 <210> 15
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Construcción sintética; CDR3 de región VL de MS-RocheN.º3

<400> 15
 cagcaggttt ataatcctcc tggt 24

20 <210> 16
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Construcción sintética; CDR3 de región VL de MS-RocheN.º3

<400> 16

```

                               Gln Gln Val Tyr Asn Pro Pro Val
  30                               1                               5
  
```

35 <210> 17
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

ES 2 590 684 T3

<220>
<223> Construcción sintética; CDR3 de región VL de MS-RocheN.º7

5 <400> 17
tttcagcttt attctgatcc tttt 24

<210> 18
<211> 8
10 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; CDR3 de región VL de MS-RocheN.º7

15 <400> 18

Phe Gln Leu Tyr Ser Asp Pro Phe
1 5

20 <210> 19
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> Construcción sintética; CDR3 de región VL de MS-RocheN.º8

<400> 19
30 cagcagcttt cttctttcc tcct 24

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35 <220>
<223> Construcción sintética; CDR3 de región VL de MS-RocheN.º8

<400> 20

40

Gln Gln Leu Ser Ser Phe Pro Pro
1 5

<210> 21
<211> 39
45 <212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; CDR3 de región VH de MS-RocheN.º3

50 <400> 21
cttactcatt atgctcgta ttatcggtat tttgatgtt 39

<210> 22
<211> 13
55 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
60 <223> Construcción sintética; CDR3 de región VH de MS-RocheN.º3

ES 2 590 684 T3

<400> 22

Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

5 <210> 23
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética; CDR3 de región VH de MS-RocheN.º7

<400> 23
 ggtaaggga atactcataa gccttatggt tatgttcggt atttgatgt t 51

15 <210> 24
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética; CDR3 de región VH de MS-RocheN.º7

25 <400> 24

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

30 <210> 25
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética; CDR3 de región VH de MS-RocheN.º8

35 <400> 25
 ctcttctc gtggtataa tgggtattat cataagttg atggt 45

40 <210> 26
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Construcción sintética; CDR3 de región VH de MS-RocheN.º8

<400> 26

Leu Leu Ser Arg Gly Tyr Asn Gly Tyr Tyr His Lys Phe Asp Val
 1 5 10 15

50 <210> 27
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>

ES 2 590 684 T3

<223> Construcción sintética; péptido beta-A4

<400> 27

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

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

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

<210> 28

<211> 17

<212> ADN

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Construcción sintética; cebador dir VL

15 <400> 28

gtggtggttc cgatac 17

<210> 29

<211> 43

20 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Construcción sintética; cebador inv VL

25 <400> 29

agcgtcacac tcggtcggc ttcggctgg ccaagaacgg tta 43

<210> 30

<211> 17

<212> ADN

30 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Construcción sintética; control primer for

35 <400> 30

caggaaacag ctatgac 17

<210> 31

<211> 19

<212> ADN

40 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Construcción sintética; cebador de control inv

<400> 31

taccgttgct cttcacc 19

50 <210> 32

<211> 360

<212> ADN

55 <213> Secuencia Artificial

ES 2 590 684 T3

<220>

<223> Construcción sintética; VH MS-RocheN.º3.6H5 x 3.6L2

<400> 32

5

```

caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccggggcg gcagcctgcg tctgagctgc      60
gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct ggggtgcgcc agcccctggg      120
aagggtctcg agtgggtgag cgctatttct gagtctggta agactaagta ttatgctgat      180
tctgttaagg gtcgttttac catttcaagt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa      240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt ggcgcgctct tactcattat      300
gctcgttatt atcgttattt tgatgtttgg ggccaaggca cctgtgtgac ggttagctca      360
    
```

<210> 33

<211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética; VH MS-RocheN.º3.6H5 x 3.6L2

15

<400> 33

```

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

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
                20              25              30

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
                35              40              45

Ile Ser Glu Ser Gly Lys Thr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
                50              55              60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
65              70              75              80

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
                115             120
    
```

ES 2 590 684 T3

<210> 34
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

5

<220>
<223> Construcción sintética; VH MS-RocheN.º3.6H8 x 3.6L2

<400> 34

10

```
caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc      60
gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct gggtgcgcca agcccctggg      120
aagggctctcg agtgggtgag cgctatttct gagtattcta agtttaagta ttatgctgat      180
tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattoga aaaacaccct gtatctgcaa      240
atgaacagcc tgcgtgogga agatacggcc gtgtattatt gcgogcgtct tactcattat      300
gctcgttatt atcgttattt tgatgtttgg ggccaaggca ccttggtgac ggtagctca      360
```

<210> 35
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15

<220>
<223> Construcción sintética; VH MS-RocheN.º3.6H8 x 3.6L2

20

<400> 35

ES 2 590 684 T3

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

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
 20 25 30

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
 35 40 45

Ile Ser Glu Tyr Ser Lys Phe Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 65 70 75 80

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

5 <210> 36
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética; VH MS-RocheN.º7.4H2 x 7.2L1
 <400> 36

caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60
 gggcctcog gatttacctt tagcagctat gcgatgagct gggtgogcca agcccctggg 120
 aagggtctcg agtgggtgag cgctattaat tataatggtg ctogtattta ttatgctgat 180
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtgg taagggtaat 300
 actcataagc cttatgggta tgttcggtat tttgatgttt ggggccaagg caccctggtg 360
 acggttagct ca 372

15 <210> 37
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>

ES 2 590 684 T3

<223> Construcción sintética; VH MS-RocheN.º7.4H2 x 7.2L1

<400> 37

5

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

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
20 25 30

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
35 40 45

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

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
65 70 75 80

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

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

10

<210> 38

<211> 372

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

15

<220>

<223> Construcción sintética; VH MS-RocheN.º7.9H2 x 7.12L2

<400> 38

caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccggggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60
goggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct gggtgcgcca agcccctggg 120
aagggtctcg agtgggtgag cgctattaat gctgatggta atcgtaagta ttatgctgat 180
tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacacct gtatctgcaa 240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtgg taagggtaat 300
actcataagc cttatggta tgttcgttat tttgatgttt ggggccaagg caccctgggtg 360
acggttagct ca 372

ES 2 590 684 T3

5 <210> 39
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética; VH MS-RocheN.º7.9H2 x 7.12L2

10 <400> 39

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

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
 20 25 30

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
 35 40 45

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

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 65 70 75 80

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

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

15 <210> 40
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética; VH MS-RocheN.º7.9H4 x 7.12L2

20 <400> 40

ES 2 590 684 T3

```

caattgggtgg aaagcggcgg cggcctgggtg caaccggggcg gcagcctgcg tctgagctgc      60
ggggcctcog gatttacctt tagcagctat gogatgagct gggtgcgcca agcccctggg      120
aagggtctcg agtgggtgag cgctattaat gctggtggtg tgaagaagtt ttatgctgat      180
tctgttaagg gtogttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa      240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgctgg taagggtaat      300
actcataagc cttatggta tgttcgttat ttgatgttt ggggccaagg caccctgggtg      360
acggttaact ca                                                                372
    
```

5 <210> 41
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética; VH MS-RocheN.º7.9H4 x 7.12L2

<400> 41

```

      .
Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
1           5           10           15

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
      20           25           30

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
      35           40           45

Ile Asn Ala Val Gly Met Lys Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
      50           55           60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
65           70           75           80

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

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
      100          105          110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
      115          120
    
```

15 <210> 42
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

ES 2 590 684 T3

<220>
 <223> Construcción sintética; VH MS-RocheN.º7.11H1 x 7.11L1

5 <400> 42

```

caattggtgg aaaggggggg eggcctggtg caacggggcg gcagcctgog tctgagctgc      60
ggggcctcog gatttacctt tagcagctat gcgatgagct gggtgogcca agccctggg      120
aagggctctcg agtgggtgag cggattaat gctgctggtt ttgctaatta ttatgctgat      180
totgttaagg gtggttttac catttcacgt gataattoga aaaacaacct gtatctgcaa      240
atgaacagcc tggctggcga agatacggcc gtctatcatt gogcgcgtgg taagggtaat      300
actcataago cttatgggta tgttcgttat ttgatgttt ggggccaagg caccctggtg      360
acggttagct ca                                                                372
    
```

10 <210> 43
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Construcción sintética; VH MS-RocheN.º7.11H1 x 7.11L1

<400> 43

```

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

ES 2 590 684 T3

5 <210> 44
<211> 372
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética; VH MS-RocheN.º7.11H1 x 7.2L1
<400> 44

```
caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc      60
gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gogatgagct ggtgcgcca agcccctggg      120
aagggctctg agtgggtgag cggtattaat gctgctggtt ttcgtactta ttatgctgat      180
tctgtaagg gtcgttttac catttcaagt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa      240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtgg taagggtaat      300
actcataagc cttatggtta tgttcgttat ttgatgttt ggggccaagg caccctggtg      360
acggttagct ca                                                                372
```

15 <210> 45
<211> 124
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética; VH MS-RocheN.º7.11H1 x 7.2L1
<400> 45

ES 2 590 684 T3

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

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
 20 25 30

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Gly
 35 40 45

Ile Asn Ala Ala Gly Phe Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 65 70 75 80

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

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

5 <210> 46
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética; VL MS-RocheN.º3.6H5 x 3.6L2
 <400> 46

gatatcgtgc tgaccagag ccggcgacc ctgagcctgt ctccggcga acgtgcgacc 60
 ctgagctgca gagcgagcca gttctttct cgttattatc tggcgtggta ccagcagaaa 120
 ccaggccaag caccgcgtct attaatttat ggcgcgagca gccgtgcaac tggggtcocg 180
 ggcggtttta gcggtcttgg atccggcaag gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240
 cctgaagact ttgoggttta ttattgocag cagacttata attatcctcc tacctttggc 300
 cagggtacga aagtcgaat taaacgtacg 330

15 <210> 47
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética; VL MS-RocheN.º3.6H5 x 3.6L2

ES 2 590 684 T3

<400> 47

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

5

<210> 48
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10

<220>
 <223> Construcción sintética; VL MS-RocheN.º3.6H8 x 3.6L2

15

<400> 48

gatatcgtgc	tgaccagag	cccgccgacc	ctgagcctgt	ctccgggcca	acgtgcgacc	60
ctgagctgca	gagcgagcca	gtttctttct	cgttattatc	tggcgtggta	ccagcagaaa	120
ccaggcaag	caccgcgtct	attaatttat	ggcgcgagca	gccgtgcaac	tggggccccg	180
gcgcgtttta	gcggctctgg	atccggcacg	gattttacce	tgaccattag	cagcctggaa	240
cctgaagact	ttgcggttta	ttattgccag	cagacttata	attatcctcc	tacctttggc	300
cagggtacga	aagttgaaat	taaacgtacg				330

20

<210> 49
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25

<220>
 <223> Construcción sintética; VL MS-RocheN.º3.6H8 x 3.6L2

ES 2 590 684 T3

<400> 49

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Phe Leu Ser Arg Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
65 70 75 80

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

- 5 <210> 50
- <211> 330
- <212> ADN
- <213> Secuencia Artificial

- 10 <220>
- <223> Construcción sintética; VL MS-RocheN.º7.4H2 x 7.2L1

<400> 50

gatatcgtgc tgaaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcga acgtgcgacc 60
ctgagctgca gagcgagcca gtatgttgat cgtacttate tggcgtggta ccagcagaaa 120
ccaggtcaag caccgcgtct attaatttat ggcgcgagca gccgtgcaac tggggtcccg 180
gcgcgtttta gcggctctgg atccggcagc gattttaccc tgaccattag cagcctggaa 240
cctgaagact ttgcgactta ttattgccag cagatttatt cttttectca tacctttggc 300
cagggtagca aagttgaaat taaacgtacg 330

- 15 <210> 51
- <211> 110
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 20 <220>
- <223> Construcción sintética; VL MS-RocheN.º7.4H2 x 7.2L1

25 <400> 51

ES 2 590 684 T3

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

5 <210> 52
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética; VL MS-RocheN.º7.9H2 x 7.12L2

<400> 52

gatategtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgagacc 60
 ctgagctgca gagcgagcca gcgttttttt tataagtata tggcgtggta ccagcagaaa 120
 ccaggtcaag caccgcgtct attaattttct ggtttcttcta accgtgcaac tgggggtcccg 180
 gcgcgtttta gcggtctctgg atccggcagc gattttaccc tgaccattag cagcctggaa 240
 cctgaagact ttgcggttta ttattgcctt cagctttata atattcctaa tacctttggc 300
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

15 <210> 53
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética; VL MS-RocheN.º7.9H2 x 7.12L2

25 <400> 53

ES 2 590 684 T3

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Phe Phe Tyr Lys
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ser Asn Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro
 85 90 95

Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105 110

5 <210> 54
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética; VL MS-RocheN.º7.9H4 x 7.12L2

<400> 54

gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcga acgtgcgacc 60
 ctgagctgca gagcgagcca gogttttttt tataagtatc tggcgtggta ccagcagaaa 120
 ccaggtcaag caccgcgtct attaatttct ggttcttcta accgtgcaac tggggtcctcg 180
 ggcggtttta ggcgctctgg atccggcaag gattttaccc tgaccattag cagcctggaa 240
 cctgaagact ttgcggttta ttattgcctt cagctttata atattcctaa tacctttggc 300
 cagggtaga aagttgaaat taaacgtacg 330

15 <210> 55
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética; VL MS-RocheN.º7.9H4 x 7.12L2

<400> 55

ES 2 590 684 T3

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Phe Phe Tyr Lys
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ser Asn Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro
 85 90 95

Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105 110

5 <210> 56
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética; VL MS-RocheN.º7.11H1 x 7.11L1
 <400> 56

gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgagacc 60
 ctgagctgca gagcgagcca gcgtattctt cgtatttacc tggcgtggta ccagcagaaa 120
 ccaggtcaag caccgcgtct attaatttat ggcgcgagca gccgtgcaac tgggggtcccg 180
 gcgcgtttta gggcctctgg atccggcaag gattttaccc tgaccattag cagcctggaa 240
 cctgaagact ttgcgactta ttattgccag caggtttatt ctctctctca tacctttggc 300
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

15 <210> 57
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética; VL MS-RocheN.º7.11H1 x 7.11L1
 <400> 57

ES 2 590 684 T3

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

5 <210> 58
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética; VL MS-RocheN.º7.11H1 x 7.2L1

<400> 58
 gatatogtgc tgaaccagag ccgggogacc ctgagcctgt ctccgggoga acgtgogacc 60
 ctgagctgca gagcagagcca gtatgttgat cgtacttata tggcgtggta ccagcagaaa 120
 ccagggtcaag caccgcgtct attaatttat ggcgogagca gcogtgcaac tggggtcocg 180
 gcgcgtttta gcggctctgg atccggcaag gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240
 cctgaagact ttgogactta ttattgocag cagatttatt cttttcctca tacctttggc 300
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

15 <210> 59
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética; VL MS-RocheN.º7.11H1 x 7.2L1
 <400> 59

ES 2 590 684 T3

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Asp Arg Thr
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
 65 70 75 80

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

His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105 110

5 <210> 60
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> HCDR3 MS-RocheN.º3.6H5 x 3.6L2
 <400> 60
 ctactcatt atgctcgta ttatcggtat tttgatgtt 39

15 <210> 61
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> HCDR3 MS-RocheN.º3.6H5 x 3.6L2
 <400> 61

25 Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

30 <210> 62
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> HCDR3 MS-RocheN.º3.6H8 x 3.6L2
 <400> 62
 ctactcatt atgctcgta ttatcggtat tttgatgtt 39

ES 2 590 684 T3

<210> 63
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> HCDR3 MS-RocheN.º3.6H8 x 3.6L2
 <400> 63
 10
 Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val
 1 5 10
 <210> 64
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> HCDR3 MS-RocheN.º7.4H2x7.2L1
 20
 <400> 64
 ggtaagggta atactcataa gccttatggt tatgttcggt atttgatgt t 51
 25
 <210> 65
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> HCDR3 MS-RocheN.º7.4H2x7.2L1
 <400> 65
 Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 1 5 10 15
 Val
 35
 <210> 66
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> HCDR3 MS-RocheN.º7.9H2x7.12L2
 <400> 66
 ggtaagggta atactcataa gccttatggt tatgttcggt atttgatgt t 51
 45
 <210> 67
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50
 <220>
 <223> HCDR3 MS-RocheN.º7.9H2x7.12L2
 55
 <400> 67

ES 2 590 684 T3

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

5 <210> 68
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> HCDR3 MS-RocheN.º7.9H4x7.12L2

<400> 68
 ggtaagggta atactcataa gccttatggt tatgttcggt atttgatgt t 51

15 <210> 69
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> HCDR3 MS-RocheN.º7.9H4x7.12L2

<400> 69

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

25 <210> 70
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> HCDR3 MS-RocheN.º7.11H1x7.11L1

35 <400> 70
 ggtaagggta atactcataa gccttatggt tatgttcggt atttgatgt t 51

40 <210> 71
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> HCDR3 MS-RocheN.º7.11H1x7.11L1

45 <400> 71

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

50 <210> 72
 <211> 51

ES 2 590 684 T3

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> HCDR3 MS-RocheN.º7.11H1x7.2L1

<400> 72
 ggtaaggga atactcataa gccttatggt tatgttcgtt atttgatgt t 51

10 <210> 73
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> HCDR3 MS-RocheN.º7.11H1x7.2L1

<400> 73

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

20 Val

<210> 74
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> LCDR3 MS-RocheN.º3.6H5 x 3.6L2

30 <400> 74
 cagcagactt ataattatcc tctt 24

35 <210> 75
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> LCDR3 MS-RocheN.º3.6H5 x 3.6L2

<400> 75

Gln Gln Thr Tyr Asn Tyr Pro Pro
 1 5

45 <210> 76
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

50 <220>
 <223> LCDR3 MS-RocheN.º3.6H8 x 3.6L2

<400> 76
 cagcagactt ataattatcc tctt 24

55 <210> 77
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

ES 2 590 684 T3

<220>
 <223> LCDR3 MS-RocheN.º3.6H8 x 3.6L2

5 <400> 77

Gln Gln Thr Tyr Asn Tyr Pro Pro
 1 5

10 <210> 78
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> LCDR3 MS-RocheN.º7.4H2x7.2L1

<400> 78
 cagcagattt attctttcc tcat 24

20 <210> 79
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> LCDR3 MS-RocheN.º7.4H2x7.2L1

<400> 79

Gln Gln Ile Tyr Ser Phe Pro His
 1 5

30 <210> 80
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> LCDR3 MS-RocheN.º7.9H2x7.12L2

40 <400> 80
 ctcagcttt ataatttcc taat 24

45 <210> 81
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50 <220>
 <223> LCDR3 MS-RocheN.º7.9H2x7.12L2

<400> 81

Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro Asn
 1 5

55 <210> 82
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>

ES 2 590 684 T3

<223> LCDR3 MS-RocheN.º7.9H4x7.12L2

<400> 82
cttcagcttt ataattcc taat 24

5

<210> 83
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10

<220>
<223> LCDR3 MS-RocheN.º7.9H4x7.12L2

<400> 83

15

 Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro Asn
 1 5

<210> 84
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

20

<220>
<223> LCDR3 MS-RocheN.º7.11H1x7.11L1

25

<400> 84
cagcaggttt attctctcc tcat 24

<210> 85
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30

<220>
<223> LCDR3 MS-RocheN.º7.11H1x7.11L1

35

<400> 85

 Gln Gln Val Tyr Ser Pro Pro His
 1 5

40

<210> 86
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

45

<220>
<223> LCDR3 MS-RocheN.º7.11H1x7.2L1

<400> 86
cagcagattt attctttcc tcat 24

50

<210> 87
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

55

<220>
<223> LCDR3 MS-RocheN.º7.11H1x7.2L1

60

<400> 87

ES 2 590 684 T3

Gln Gln Ile Tyr Ser Phe Pro His
 1 5

5 <210> 88
 <211> 378
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética; VH MS-RocheN.º7.9H7

<400> 88

```

caggtgcaat tgggtgaaag cggcggcggc ctggtgcaac cgggcggcag cctgcgtctg      60
agctgcggcg cctccggatt tacctttagc agctatgcga tgagctgggt gcgccaaagcc     120
cctgggaagg gtctcgagtg ggtgagcgcct attaatgctt ctggtactcg tacttattat     180
gctgattctg ttaagggctg ttttaccatt tcacgtgata attcgaaaaa caccctgtat     240
ctgcaaatga acagcctgcg tgcggaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtaag     300
ggtaatactc ataagcetta tggttatggt cgttattttg atgtttgggg ccaaggcacc     360
ctggtgaecg ttagctca                                     378
  
```

15 <210> 89
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética; VH MS-RocheN.º7.9H7

25 <400> 89

ES 2 590 684 T3

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

5 <210> 90
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética; VL MS-RocheN.º7.9H7
 <400> 90

gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcga acgtgcgacc 60
 ctgagctgca gagcgagcca gagcgtgagc agcagctatc tggcgtggta ccagcagaaa 120
 ccagggtcaag caccgcgtct attaatattat ggcgcgagca gcogtgcaac tgggggtcccg 180
 ggcggtttta gcggctctgg atccggcaag gattttaccc tgaccattag cagcctggaa 240
 cctgaagact ttgcgactta ttattgcctt cagatttata atatgcctat tacctttggc 300
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

15 <210> 91
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética; VL MS-RocheN.º7.9H7

ES 2 590 684 T3

<400> 91

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ile Tyr Asn Met Pro
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

5 <210> 92
<211> 51
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética; HCDR3 MS-RocheN.º7.9H7

<400> 92
ggtaagggta atactcataa gccttatggt tatgttcgtt atttgatgt t 51

15 <210> 93
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética; HCDR3 MS-RocheN.º7.9H7

25 <400> 93

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

30 <210> 94
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

ES 2 590 684 T3

<220>
<223> Construcción sintética; LCDR3 MS-RocheN.º7.9H7

5 <400> 94
cttcagatt ataatatgcc tatt 24

<210> 95
<211> 8
<212> PRT
10 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; LCDR3 MS-RocheN.º7.9H7

15 <400> 95

Leu Gln Ile Tyr Asn Met Pro Ile
1 5

<210> 96
20 <211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
25 <223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º3

<400> 96

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

30 <210> 97
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35 <220>
<223> Construcción sintética; LCDR2 de MS-RocheN.º3

40 <400> 97

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 98
45 <211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
50 <223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º3

<400> 98

Gln Gln Val Tyr Asn Pro Pro Val
1 5

ES 2 590 684 T3

<210> 99
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Construcción sintética; HCDR1 de MS-RocheN.º3
 <400> 99
 10
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser
 1 5 10

 <210> 100
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3
 20
 <400> 100
 Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

 Gly
 25
 <210> 101
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> Construcción sintética; HCDR3 de MS-RocheN.º3
 <400> 101

 Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val
 1 5 10
 35

 <210> 102
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º3.1
 45
 <400> 102

 Gln Gln Val Tyr Ser Val Pro Pro
 1 5
 50
 <210> 103
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>

ES 2 590 684 T3

<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º3.2

<400> 103

Gln Gln Ile Tyr Ser Tyr Pro Pro
1 5

5

<210> 104

<211> 8

<212> PRT

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º3.3

15 <400> 104

His Gln Met Ser Ser Tyr Pro Pro
1 5

20

<210> 105

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º3.4

<400> 105

Gln Gln Thr Tyr Asp Tyr Pro Pro
1 5

30

<210> 106

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

35

<220>

<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º3.5

<400> 106

40

Gln Gln Ile Tyr Asp Tyr Pro Pro
1 5

<210> 107

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

45

<220>

<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º3.6

50

<400> 107

Gln Gln Thr Tyr Asn Tyr Pro Pro
1 5

ES 2 590 684 T3

5 <210> 108
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.2H1

10 <400> 108

Ala	Ile	Ser	Glu	His	Gly	Leu	Asn	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

15 <210> 109
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.2H2

20 <400> 109

Ala	Ile	Ser	Gln	Arg	Gly	Gln	Phe	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

25 <210> 110
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.3H1

<400> 110

Val	Ile	Ser	Glu	Lys	Ser	Arg	Phe	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

35 Gly

40 <210> 111
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.3H2

45 <400> 111

ES 2 590 684 T3

Val Ile Ser Gln Glu Ser Gln Tyr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

5 <210> 112
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 10 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.3H3
 <400> 112

Ala Ile Ser Gln Asn Gly Phe His Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

15 <210> 113
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.4H1
 <400> 113

Ala Ile Ser Glu Thr Ser Ile Arg Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

25 <210> 114
 <211> 16
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.4H2
 35 <400> 114

Val Ile Asp Met Val Gly His Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15

40 <210> 115
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 45 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.4H3

ES 2 590 684 T3

<400> 115

Val Ile Ser Gln Thr Gly Arg Lys Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

5 <210> 116
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.4H4

<400> 116

Ala Ile Ser Glu Thr Gly Met His Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

15 <210> 117
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.4H5

25 <400> 117

Val Ile Ser Gln Val Gly Ala His Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

30 <210> 118
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.4H6

<400> 118

Ala Ile Ser Glu Ser Gly Trp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

40 <210> 119
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

ES 2 590 684 T3

<220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.4H7

5 <400> 119

Val Ile Ser Glu Thr Gly Lys Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

10 <210> 120
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15 <220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.4H8

<400> 120

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

Gly

20 <210> 121
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.4H9

<400> 121

30 Ala Ile Ser Glu Ser Ser Lys Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

35 <210> 122
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.4H10

<400> 122

Ala Ile Ser Glu Ser Gly Arg Gly Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

ES 2 590 684 T3

5 <210> 123
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.4H11

10 <400> 123

Ala Ile Ser Glu Phe Gly Lys Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

15 <210> 124
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.4H12

20 <400> 124

Val Ile Ser Gln Thr Gly Gln Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

25 <210> 125
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.4H13

<400> 125

Ala Ile Ser Glu Gln Gly Arg Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

35 Gly

40 <210> 126
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.4H14

45 <400> 126

ES 2 590 684 T3

Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gln Tyr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

- 5 <210> 127
- <211> 17
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial
- <220>
- 10 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.4H16
- <400> 127

Ala Ile Ser Glu Ser Gly Val Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

- 15 <210> 128
- <211> 17
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial
- 20 <220>
- <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.4H17
- <400> 128

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

Gly

- 25 <210> 129
- <211> 17
- <212> PRT
- 30 <213> Secuencia Artificial
- <220>
- <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.4H18
- 35 <400> 129

Ala Ile Ser Gln Gln Ser Asn Phe Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

- 40 <210> 130
- <211> 12
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial
- <220>
- 45 <223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º3.4L7

ES 2 590 684 T3

<400> 130

Arg Ala Ser Gln Arg Leu Gly Arg Leu Tyr Leu Ala
1 5 10

5

<210> 131
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10

<220>
<223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º3.4L8

15

<400> 131

Arg Ala Ser Gln Trp Ile Thr Lys Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

20

<210> 132
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25

<220>
<223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º3.4L9

30

<400> 132

Arg Ala Ser Arg Arg Ile His Val Tyr Tyr Leu Ala
1 5 10

35

<210> 133
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40

<220>
<223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º3.4L11

<400> 133

Arg Ala Ser Gln Leu Val Gly Arg Ala Tyr Leu Ala
1 5 10

45

<210> 134
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

50

<220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.6H1

<400> 134

Val Ile Ser Glu Ser Gly Gln Tyr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

ES 2 590 684 T3

<210> 135
<211> 17
<212> PRT
5 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.6H2

10 <400> 135

Val Ile Ser Glu Arg Gly Ile Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 136
15 <211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
20 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.6H3

<400> 136

Val Ile Ser Glu Thr Gly Lys Phe Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

25 <210> 137
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.6H4

<400> 137

35 Ala Ile Ser Glu Arg Gly Arg His Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 138
40 <211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
45 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.6H5

<400> 138

ES 2 590 684 T3

Ala Ile Ser Glu Ser Gly Lys Thr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

- 5 <210> 139
- <211> 17
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- <220>
- 10 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.6H6

- <400> 139

Ala Ile Ser Glu His Gly Thr Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

- 15 <210> 140
- <211> 17
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- <220>
- 20 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º3.6H8

- <400> 140

Ala Ile Ser Glu Tyr Ser Lys Phe Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

25 Gly

- <210> 141
- <211> 12
- <212> PRT
- 30 <213> Secuencia Artificial

- <220>
- <223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º3.6L1

- 35 <400> 141

Arg Ala Ser Gln Phe Ile Gln Arg Phe Tyr Leu Ala
1 5 10

- <210> 142
- <211> 12
- 40 <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- <220>
- <223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º3.6L2

- 45 <400> 142

ES 2 590 684 T3

Arg Ala Ser Gln Phe Leu Ser Arg Tyr Tyr Leu Ala
 1 5 10

5 <210> 143
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º7
 <400> 143

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10

15 <210> 144
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética; LCDR2 de MS-RocheN.º7
 <400> 144

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
 1 5

25 <210> 145
 <211> 8
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º7
 35 <400> 145

Phe Gln Leu Tyr Ser Asp Pro Phe
 1 5

40 <210> 146
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Construcción sintética; HCDR1 de MS-RocheN.º7
 <400> 146

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser
 1 5 10

50 <210> 147
 <211> 17
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia Artificial

ES 2 590 684 T3

<220>

<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7

<400> 147

5

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 148

<211> 17

10

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Construcción sintética; HCDR3 de MS-RocheN.º7

15

<400> 148

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

20

<210> 149

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

25

<220>

<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º7.1

<400> 149

His Gln Leu Tyr Ser Ser Pro Tyr
1 5

30

<210> 150

<211> 8

<212> PRT

35

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º7.2

40

<400> 150

Gln Gln Ile Tyr Ser Phe Pro His
1 5

45

<210> 151

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

50

<220>

<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º7.3

ES 2 590 684 T3

<400> 151

His Gln Val Tyr Ser His Pro Phe
1 5

5 <210> 152
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º7.4

<400> 152

Gln Gln Ile Tyr Asn Phe Pro His
1 5

15 <210> 153
<211> 8
<212> PRT
20 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º7.5

25 <400> 153

His Gln Val Tyr Ser Ser Pro Phe
1 5

30 <210> 154
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35 <220>
<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º7.6

<400> 154

His Gln Leu Tyr Ser Pro Pro Tyr
1 5

40 <210> 155
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º7.7

<400> 155

50 His Gln Val Tyr Ser Ala Pro Phe
1 5

<210> 156
<211> 8
55 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

ES 2 590 684 T3

<220>
<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º7.8

5 <400> 156

His Gln Val Tyr Ser Phe Pro Ile
1 5

10 <210> 157
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15 <220>
<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º7.9

<400> 157

Leu Gln Ile Tyr Asn Met Pro Ile
1 5

20 <210> 158
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º7.10

<400> 158

30 Gln Gln Val Tyr Asn Pro Pro His
1 5

35 <210> 159
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º7.11

<400> 159

Gln Gln Val Tyr Ser Pro Pro His
1 5

45 <210> 160
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

50 <220>
<223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º7.12

<400>> 160

55 Arg Ala Ser Gln Tyr Val Ser Ser Pro Tyr Leu Ala
1 5 10

ES 2 590 684 T3

<210> 161
<211> 7

5 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; LCDR2 de MS-RocheN.º7.12

10 <400> 161

Gly Ser Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

15 <210> 162
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º7.12

<400> 162

Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro Asn
1 5

25 <210> 163
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> Construcción sintética; HCDR1 de MS-RocheN.º7.12

35 <400> 163

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met Ser
1 5 10

40 <210> 164
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.12

45 <400> 164

Asn Ile Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

50 Gly

<210> 165
<211> 17

ES 2 590 684 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Construcción sintética; HCDR3 de MS-RocheN.º7.12

<400> 165

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 1 . 5 10 15

Val

10 <210> 166
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º7.13

20 <400> 166

His Gln Val Tyr Ser Pro Pro Phe
 1 5

25 <210> 167
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.2H1

<400> 167

Ala Ile Asn Ala Asn Gly Leu Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

35 <210> 168
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.2H2

<400> 168

Ala Ile Asn Gly Thr Gly Met Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

45 <210> 169

ES 2 590 684 T3

<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

5 <220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.2H3
<400> 169

Ala Ile Asn Ala Asn Gly Tyr Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

10 Gly

<210> 170
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15 <220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.2H4
20 <400> 170

Ala Ile Asn Ser Lys Gly Ser Arg Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

25 <210> 171
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.2H5
<400> 171

Ala Ile Asn Ala Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

35 Gly

<210> 172
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.2H6
45 <400> 172

ES 2 590 684 T3

Ala Ile Asn Ala Arg Gly Asn Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

- 5 <210> 173
- <211> 17
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial
- <220>
- 10 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.2H7
- <400> 173

Ala Ile Asn Ser Arg Gly Ser Asp Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

- 15 <210> 174
- <211> 17
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial
- 20 <220>
- <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.2H8
- <400> 174

Ala Ile Asn Ala Ser Gly His Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

25 Gly

- <210> 175
- <211> 12
- 30 <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial
- <220>
- <223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º7.2L1
- 35 <400> 175

Arg Ala Ser Gln Tyr Val Asp Arg Thr Tyr Leu Ala
 1 5 10

- 40 <210> 176
- <211> 12
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial
- <220>
- 45 <223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º7.2L2
- <400> 176

ES 2 590 684 T3

Arg Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Phe Arg Tyr Leu Ala
 1 5 10

5 <210> 177
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º7.2L4
 <400> 177

Arg Ala Ser Gln Phe Ile Arg Arg Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10

15 <210> 178
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º7.3H1
 <400> 178

25 His Gln Val Tyr Ser His Pro Phe
 1 5

30 <210> 179
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.3H1
 <400> 179

Ala Ile Ser Ala Ile Ser Asn Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

40 <210> 180
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º7.3L1
 <400> 180

Arg Ala Ser Gln Tyr Leu His Tyr Gly Tyr Leu Ala
 1 5 10

50

ES 2 590 684 T3

<210> 181
<211> 17
<212> PRT
5 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.4H1

10 <400> 181

Ala Ile Asn Ala Thr Gly Tyr Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 182
15 <211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
20 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.4H2

<400> 182

Ala Ile Asn Tyr Asn Gly Ala Arg Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

25 <210> 183
<211> 8
<212> PRT
30 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º7.9H1

<400> 183

35 Leu Gln Ile Tyr Asn Met Pro Ile
1 5

<210> 184
40 <211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
45 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.9H1

<400> 184

Ala Ile Asn Ala Asn Gly Gln Arg Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

ES 2 590 684 T3

<210> 185
<211> 17
<212> PRT
5 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.9H2

10 <400> 185

Ala Ile Asn Ala Asp Gly Asn Arg Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 186
15 <211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
20 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.9H3

<400> 186

Ala Ile Asn Tyr Gln Gly Asn Arg Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

25 <210> 187
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.9H4

<400> 187

35 <210> 188
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
40 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.9H5

<400> 188

Ala Ile Asn Ala Val Gly Met Lys Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 188
40 <211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
45 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.9H5

<400> 188

ES 2 590 684 T3

Ala Ile Asn Ala Ser Gly Thr Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

- 5 <210> 193
- <211> 17
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- <220>
- 10 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.9H8

- <400> 193

Ala Ile Asn Ala Ser Gly Ser Lys Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

- 15 <210> 194
- <211> 17
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- <220>
- 20 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.9H9

- <400> 194

Ala Ile Asn Gly Lys Gly Asn Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

25 Gly

- <210> 195
- <211> 17
- <212> PRT
- 30 <213> Secuencia Artificial

- <220>
- <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.11H1

- 35 <400> 195

Gly Ile Asn Ala Ala Gly Phe Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

- 40 <210> 196
- <211> 17
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- <220>
- 45 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.11H2

ES 2 590 684 T3

<400> 196

Ala Ile Asn Ala Asn Gly Tyr Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

5

<210> 197
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10

<220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.11H3

<400> 197

15

Gly Ile Asn Ala Asn Gly Asn Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

20

<210> 198
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25

<220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.11H4

<400> 198

Ala Ile Asn Ala Asn Gly Tyr Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

30

<210> 199
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35

<220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.11H5

<400> 199

Ala Ile Asn Ala His Gly Gln Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

40

Gly

<210> 200
<211> 12
<212> PRT

ES 2 590 684 T3

<213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º7.11L1
 5 <400> 200
 Arg Ala Ser Gln Arg Ile Leu Arg Ile Tyr Leu Ala
 1 5 10
 10 <210> 201
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º7.12H1
 <400> 201
 Arg Ala Ser Gln Tyr Val Phe Arg Arg Tyr Leu Ala
 1 5 10
 20 <210> 202
 <211> 8
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º7.12H1
 30 <400> 202
 Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro Asn
 1 5
 35 <210> 203
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 40 <223> Construcción sintética; HCDR1 de MS-RocheN.º7.12H1
 <400> 203
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met Ser
 1 5 10
 45 <210> 204
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50 <220>
 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.12H1
 <400> 204
 55

ES 2 590 684 T3

Asn Ile Asn Gly Asn Gly Asn Arg Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

5 <210> 205
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 10 <223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º7.12L1
 <400> 205

Asn Ile Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

15 <210> 206
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º7.12L2
 <400> 206

Arg Ala Ser Gln Arg Phe Phe Tyr Lys Tyr Leu Ala
 1 5 10

25 <210> 207
 <211> 12
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º7.12L3
 35 <400> 207

Arg Ala Ser Gln Phe Val Arg Arg Gly Phe Leu Ala
 1 5 10

40 <210> 208
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 45 <223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º7.12L4
 <400> 208

Arg Ala Ser Gln Arg Leu Lys Arg Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10

ES 2 590 684 T3

<210> 209
<211> 12
<212> PRT
5 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º7.12L6

10 <400> 209

Arg Ala Ser Gln Tyr Leu Trp Tyr Arg Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 210
<211> 12
<212> PRT
15 <213> Secuencia Artificial

<220>
20 <223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º7.12L7

<400> 210

Arg Ala Ser Gln Trp Ile Arg Lys Thr Tyr Leu Ala
1 5 10

25 <210> 211
<211> 12
<212> PRT
30 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º8

<400> 211

35 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 212
<211> 7
40 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
45 <223> Construcción sintética; LCDR2 de MS-RocheN.º8

<400> 212

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

50 <210> 213
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

55 <220>
<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º8

ES 2 590 684 T3

<400> 213

Gln Gln Leu Ser Ser Phe Pro Pro
1 5

5 <210> 214
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética; HCDR1 de MS-RocheN.º8

<400> 214

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser
1 5 10

15 <210> 215
<211> 17
<212> PRT
20 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º8

25 <400> 215

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

30 <210> 216
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35 <220>
<223> Construcción sintética; HCDR3 de MS-RocheN.º8

<400> 216

Leu Leu Ser Arg Gly Tyr Asn Gly Tyr Tyr His Lys Phe Asp Val
1 5 10 15

40 <210> 217
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º8.1

<400> 217

50 Gln Gln Leu Ser Asn Tyr Pro Pro
1 5

ES 2 590 684 T3

5
<210> 218
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º8.2

10
<400> 218

Gln Gln Leu Ser Ser Tyr Pro Pro
1 5

15
<210> 219
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20
<220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º8.1H1

<400> 219

Ala Ile Ser Arg Ser Gly Ser Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

25
<210> 220
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30
<220>
<223> Construcción sintética; LCDR3 de MS-RocheN.º8.2H1

<400> 220

35
Gln Gln Leu Ser Ser Tyr Pro Pro
1 5

40
<210> 221
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º8.2H1

45
<400> 221

Ala Ile Ser Ile Thr Gly Arg Arg Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

50
<210> 222
<211> 17
<212> PRT

ES 2 590 684 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º8.2H2

5 <400> 222

```

      Ala Ile Ser Arg Thr Gly Ser Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
      1           5           10           15

```

Gly

10 <210> 223
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15 <220>

<223> Construcción sintética; HCDR2 de MS-RocheN.º8.2H4

<400> 223

```

      Ala Thr Ser Val Lys Gly Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
      1           5           10           15

```

20

<210> 224
<211> 12
<212> PRT

25 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Construcción sintética; LCDR1 de MS-RocheN.º8.2L1

30 <400> 224

```

      Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Gly Arg Tyr Leu Ala
      1           5           10

```

35 <210> 225
<211> 109
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>

40 <223> Construcción sintética; VL kappa1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (96)..(96)

45 <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, o Tyr

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (93)..(93)

50 <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Gly, His, Leu, Asn o Ser

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (92)..(92)

55 <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Asp, Gly, Asn, Ser o Tyr

ES 2 590 684 T3

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (91)..(91)
 5 <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp o Tyr

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 10 <222> (89)..(89)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Phe, His, Ile, Leu, Met o G In,

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 15 <222> (85)..(85)
 <223> Xaa = puede ser Thr o Val

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 20 <222> (94)..(94)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, o Tyr

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 25 <222> (95)..(95)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Leu, Pro o Ser

<400> 225
 30

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

<210> 226
 <211> 114
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

ES 2 590 684 T3

<220>
<223> Construcción sintética; VL kappa2

5 <220>
<221> misc_feature
<222> (101)..(101)
<223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, o Tyr

10 <220>
<221> misc_feature
<222> (94)..(94)
<223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Phe, His, Ile, Leu, Met o Gln,

15 <220>
<221> misc_feature
<222> (96)..(96)
<223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp o Tyr

20 <220>
<221> misc_feature
<222> (97)..(97)
<223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Asp, Gly, Asn, Ser o Tyr

25 <220>
<221> misc_feature
<222> (98)..(98)
<223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Gly, His, Leu, Asn o Ser

30 <220>
<221> misc_feature
<222> (99)..(99)
<223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, o Tyr

35 <220>
<221> misc_feature
<222> (100)..(100)
<223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Leu, Pro o Ser

40 <220>
<221> misc_feature
<222> (100)..(100)
<223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Leu, Pro o Ser

<400> 226

ES 2 590 684 T3

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30

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

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

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

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

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg Thr

- 5 <210> 227
- <211> 110
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 10 <220>
- <223> Construcción sintética; VL kappa3

- 15 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (97)..(97)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, o Tyr

- 20 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (90)..(90)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Phe, His, Ile, Leu, Met o G In,

- 25 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (86)..(86)
- <223> Xaa = Thr o Val

- 30 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (92)..(92)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp o Tyr

- <220>
- <221> misc_feature

ES 2 590 684 T3

<222> (93)..(93)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Asp, Gly, Asn, Ser o Tyr

5 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (94)..(94)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Gly, His, Leu, Asn o Ser

10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (95)..(95)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, o Tyr

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (96)..(96)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Leu, Pro o Ser

20 <400> 227

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

25 <210> 228
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Construcción sintética; VL kappa4

35 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (102)..(102)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, o Tyr

ES 2 590 684 T3

5
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (95)..(95)
<223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Phe, His, Ile, Leu, Met o G In,

10
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (97)..(97)
<223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp o Tyr

15
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (98)..(98)
<223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Asp, Gly, Asn, Ser o Tyr

20
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (99)..(99)
<223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Gly, His, Leu, Asn o Ser

25
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (100)..(100)
<223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, o Tyr

30
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (101)..(101)
<223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Leu, Pro o Ser

<400> 228

ES 2 590 684 T3

```

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
          20           25           30

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
          50           55           60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65           70           75           80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Xaa Gln
          85           90           95

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
          100          105          110

Lys Arg Thr
          115

```

- 5 <210> 229
- <211> 111
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 10 <220>
- <223> Construcción sintética; VL lambdal

- 15 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (99)..(99)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido

- 20 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (97)..(98)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido excepto una Cys o una supresión

- 25 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (94)..(96)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido excepto una Cys

- 30 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (92)..(92)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido de Cys, Phe, His, Arg, Trp o Tyr

- <400> 229

ES 2 590 684 T3

```

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
          20           25           30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
          35           40           45

Ile Tyr Asp Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
          50           55           60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65           70           75           80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Xaa Asp Xaa Xaa Xaa
          85           90           95

Xaa Xaa Xaa Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
          100          105          110

```

- 5 <210> 230
- <211> 112
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 10 <220>
- <223> Construcción sintética; VL lambda2

- <220>
- <221> MISC_FEATURE

- 15 <222> (100)..(100)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (93)..(93)
- 20 <223> Xaa = cualquier aminoácido de Cys, Phe, His, Arg, Trp o Tyr

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (95)..(97)
- 25 <223> Xaa = cualquier aminoácido excepto una Cys

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (98)..(99)
- 30 <223> Xaa = cualquier aminoácido excepto una Cys o una supresión

- <400> 230

ES 2 590 684 T3

```

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
           20           25           30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
           35           40           45

Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
           50           55           60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65           70           75           80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Xaa Asp Xaa Xaa
           85           90           95

Xaa Xaa Xaa Xaa Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
           100           105           110

```

```

5 <210> 231
  <211> 109
  <212> PRT
  <213> Secuencia Artificial

10 <220>
  <223> Construcción sintética; VL lambda3

  <220>
  <221> MISC_FEATURE
  <222> (97) .. (97)
  <223> Xaa = cualquier aminoácido

15 <220>
  <221> MISC_FEATURE
  <222> (90) .. (90)
  <223> Xaa = cualquier aminoácido de Cys, Phe, His, Arg, Trp o Tyr

20 <220>
  <221> MISC_FEATURE
  <222> (92) .. (94)
  <223> Xaa = cualquier aminoácido excepto una Cys

25 <220>
  <221> MISC_FEATURE
  <222> (95)..(96)
  <223> Xaa = cualquier aminoácido excepto una Cys o una supresión

30 <400> 231

```

ES 2 590 684 T3

```

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

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

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

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50           55           60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65           70           75           80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Xaa Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
85           90           95

Xaa Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100           105

```

- 5 <210> 232
- <211> 127
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 10 <220>
- <223> Construcción sintética; VH1A

- 15 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (99)..(112)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido o una supresión

- 20 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (116)..(116)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Phe, His, Ile, Leu, Asn, Pro, Ser, Val, Trp o Tyr

- 25 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (114)..(114)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, Ile, Leu, Met, Pro, Gln, Ser, Thr, Val o Tyr

- 30 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (113)..(113)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido

- <400> 232

ES 2 590 684 T3

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

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

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

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Xaa
 100 105 110

Xaa Xaa Asp Xaa Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

- 5 <210> 233
- <211> 127
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 10 <220>
- <223> Construcción sintética; VH1B

- 15 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (99)..(112)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido o una supresión

- 20 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (113)..(113)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido

- 25 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (114)..(114)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, Ile, Leu, Met, Pro, Gln, Ser, Thr, Val o Tyr

- 30 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (116)..(116)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Phe, His, Ile, Leu, Asn, Pro, Ser, Val, Trp o Tyr

- <400> 233

ES 2 590 684 T3

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

- 5 <210> 234
- <211> 128
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial
- 10 <220>
- <223> Construcción sintética; VH2
- 15 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (100)..(113)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido o una supresión
- 20 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (114)..(114)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido
- 25 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (117)..(117)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Phe, His, Ile, Leu, Asn, Pro, Ser, Val, Trp o Tyr
- 30 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (115)..(115)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, Ile, Leu, Met, Pro, Gln, Ser, Thr, Val o Tyr
- <400> 234

ES 2 590 684 T3

```

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
          20          25          30

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

Trp Leu Ala Leu Ile Asp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser
          50          55          60

Leu Lys Thr Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65          70          75          80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
          85          90          95

Cys Ala Arg Xaa Xaa
100          105          110

Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115          120          125

```

```

5 <210> 235
   <211> 127
   <212> PRT
   <213> Secuencia Artificial

10 <220>
   <223> Construcción sintética; VH3

15 <220>
   <221> MISC_FEATURE
   <222> (99)..(112)
   <223> Xaa = cualquier aminoácido o una supresión

20 <220>
   <221> MISC_FEATURE
   <222> (113)..(113)
   <223> Xaa = cualquier aminoácido

25 <220>
   <221> MISC_FEATURE
   <222> (116)..(116)
   <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Phe, His, Ile, Leu, Asn, Pro, Ser, Val, Trp o Tyr

30 <220>
   <221> MISC_FEATURE
   <222> (114)..(114)
   <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, Ile, Leu, Met, Pro, Gln, Ser, Thr,
   Val o Tyr

   <400> 235

```

ES 2 590 684 T3

```

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20           25           30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35           40           45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50           55           60

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

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

Ala Arg Xaa Xaa
100           105           110

Xaa Xaa Asp Xaa Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115           120           125

```

- 5 <210> 236
- <211> 126
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 10 <220>
- <223> Construcción sintética; VH4

- 15 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (98)..(111)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido o una supresión

- 20 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (112)..(112)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido

- 25 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (113)..(113)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, Ile, Leu, Met, Pro, Gln, Ser, Thr, Val o Tyr

- 30 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (115)..(115)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Phe, His, Ile, Leu, Asn, Pro, Ser, Val, Trp o Tyr

ES 2 590 684 T3

<400> 236

```

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
          20           25           30

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

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50           55           60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65           70           75           80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
          85           90           95

Arg Xaa Xaa
          100           105           110

Xaa Asp Xaa Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115           120           125

```

- 5 <210> 237
- <211> 127
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 10 <220>
- <223> Construcción sintética; VH5

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- 15 <222> (99)..(112)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido o una supresión

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- 20 <222> (113)..(113)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- 25 <222> (116)..(116)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Phe, His, Ile, Leu, Asn, Pro, Ser, Val, Trp o Tyr

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- 30 <222> (114)..(114)
- <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, Ile, Leu, Met, Pro, Gln, Ser, Thr, Val o Tyr

ES 2 590 684 T3

<400> 237

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

- 5 <210> 238
 <211> 130
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
- 10 <220>
 <223> Construcción sintética; VH6

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
- 15 <222> (102)..(115)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido o una supresión

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
- 20 <222> (116)..(116)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
- 25 <222> (119)..(119)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Phe, His, Ile, Leu, Asn, Pro, Ser, Val, Trp o Tyr

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
- 30 <222> (117)..(117)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido de una mezcla de Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, Ile, Leu, Met, Pro, Gln, Ser, Thr, Val o Tyr

ES 2 590 684 T3

<400> 238

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

130

- 5 <210> 239
 <211> 327
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
- 10 <220>
 <223> Construcción sintética; VL kappa1

 <220>
 <221> misc_feature
- 15 <222> (286)..(288)
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT
- 20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (271)..(273)
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT
- 25 <220>
 <221> misc_feature

ES 2 590 684 T3

<222> (265)..(267)
 <223> nnn = TTT, CAT, CTT, ATG o CAG

5 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (253)..(256)
 <223> nnn = puede ser ACT o GTT

10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (283)..(285)
 <223> nnn = CTT, CCT o TCT

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (280)..(282)
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

20 <220>
 <221> misc feature
 <222> (277)..(279)
 <223> nnn = GCT, GAT, GGT, CAT, CTT, AAT o TCT

25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (274)..(276)
 <223> nnn = GAT, GGT, AAT, TCT o TAT

30 <400> 239

```

gatatocaga tgaccocagag cccgtctagc ctgagcgcga gcgtgggtga tcgtgtgacc      60
attacctgca gagcgagcca gggcattagc agctatctgg cgtggtacca gcagaaacca      120
ggtaaagcac cgaaactatt aatttatgca gccagcagct tgcaaagcgg ggtcccgtcc      180
cgttttagcg gctctggatc cggcactgat tttaccctga ccattagcag cctgcaacct      240
gaagactttg cgnnntatta ttgcnnncag nnnnnnnnnn nnnnnnnnac ctttggccag      300
ggtacgaaag ttgaaattaa acgtacg                                           327

```

35 <210> 240
 <211> 328
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> Construcción sintética; VL kappa2

45 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (289)..(289)
 <223> n = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, C AG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

50 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (280)..(280)
 <223> n = TTT, CAT, CTT, ATG o CAG

<220>
 <221> misc_feature

ES 2 590 684 T3

<222> (284)..(284)
 <223> n = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CAG, C GT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

5 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (285)..(285)
 <223> n = GAT, GGT, AAT, TCT o TAT

10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (286)..(289)
 <223> n = GCT, GAT, GGT, CAT, CTT, AAT o TCT

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (287)..(287)
 <223> n = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, C AG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (288)..(288)
 <223> n = CTT, CCT o TCT

25 <400> 240

gatatcgtga tgaccagag cccaactgagc ctgccagtga ctccgggoga gcctgogagc 60
 attagctgca gaagcagcca aagcctgctg catagcaacg gctataacta tctggattgg 120
 taccttcaaa aaccaggtoa aagcccgag ctattaattt atctgggcag caaccgtgcc 180
 agtggggctcc cggatcgttt tagcggctct ggatccggca ccgattttac cctgaaaatt 240
 agccgtgtgg aagctgaaga cgtgggcgtg tattattgcn cagnnnnna cctttggcca 300
 gggtacgaaa gttgaaatta aacgtacg 328

30 <210> 241
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Construcción sintética; VL kappa3

<220>
 <221> misc_feature

40 <222> (289)..(291)
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

<220>
 <221> misc_feature

45 <222> (256)..(258)
 <223> nnn = puede ser ACT o GTT

<220>
 <221> misc_feature

50 <222> (265)..(276)
 <223> nnn = TTT, CAT, CTT, ATG o CAG

ES 2 590 684 T3

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (274)..(276)
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT
 5

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (277)..(279)
 <223> nnn = GAT, GGT, AAT, TCT o TAT
 10

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (280)..(282)
 <223> nnn = GCT, GAT, GGT, CAT, CTT, AAT o TCT
 15

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (283)..(285)
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT
 20

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (286)..(288)
 <223> nnn = CTT, CCT o TCT
 25

<400> 241

gatatogtgc	tgacccagag	cccgggcagc	ctgagcctgt	ctccgggoga	acgtgogacc	60
ctgagctgca	gagcagagca	gagcgtgagc	agcagctatc	tggcgtggta	ccagcagaaa	120
ccaggtcaag	cacogogtct	attaatttat	ggcogogagca	gocgtgcaac	tggggctcccg	180
gcgcgtttta	gggctctgg	atccggcagc	gattttacc	tgaccattag	cagcctggaa	240
cctgaagact	ttgcnnta	ttattgcnnn	cagnnnnnnn	nnnnnnnnnn	naectttggc	300
cagggtagca	aagttgaaat	taaacgtacg				330

<210> 242
 <211> 345
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 35

<220>
 <223> Construcción sintética; VL kappa4
 40

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (304)..(306)
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT
 45

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (283)..(285)
 <223> nnn = TTT, CAT, CTT, ATG o CAG
 50

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (289)..(291)
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o

ES 2 590 684 T3

TAT

5 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (292)..(294)
 <223> nnn = GAT, GGT, AAT, TCT o TAT

10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (295)..(297)
 <223> nnn = GCT, GAT, GGT, CAT, CTT, AAT o TCT

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (298)..(300)
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (301)..(303)
 <223> nnn = CTT, CCT o TCT

25 <400> 242

	gatatcgttga tgaccagag cccggataga ctggcgggtga gcctggggoga acgtgogacc	60
	attaactgca gaagcagcca gagcgtgctg tatagcagca acaacaaaaa ctatctggcg	120
	tggtaccagc agaaaccagg tcagccgcgcg aaactattaa tttattgggc atccaccogt	180
	gaaagcgggg tcccggatcg ttttagcggc tctggatccg gcactgattt taccctgacc	240
	atttcgtccc tgcaagctga agacgtggcg gtgtattatt gcnnncagnn nnnnnnnnnn	300
	nnnnnacct ttggccaggg tacgaaagt gaaattaaac gtaacg	345

30 <210> 243
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Construcción sintética; VL lambda

40 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (274)..(274)
 <223> n = TGT, TTT, CAT, CGT, TGG o TAT

45 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (278)..(280)
 <223> n = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, C AG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

50 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (281)..(282)
 <223> n = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, C AG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT o una supresión

<220>
 <221> misc_feature

ES 2 590 684 T3

<222> (283)..(283)

<223> n = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, C CT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

5 <400> 243

```

gatatcgtgc tgaccagcc gocttcagtg agtggcgcc caggtcagcg tgtgaccatc      60
tcgtgtagcg gcagcagcag caacattggc agcaactatg tgagctggta ccagcagttg      120
cccgggacgg cgcgaaaact gotgatttat gataacaacc agogtccctc aggcgtgcog      180
gatcgtttta gcggatocaa aagcggcacc agcgcgagcc ttgogattac gggcctgcaa      240
agcgaagacg aagcggatta ttattgocag tctngatnnn nnnngtgttg gcggcgccac      300
gaagttaacc gttcttggcc ag                                             322

```

10 <210> 244
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Construcción sintética; VL lambda2

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (274)..(276)
 <223> nnn = TGT, TTT, CAT, CGT, TGG o TAT

25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (290)..(295)
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT o una supresión

30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (296)..(298)
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

35 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (280)..(289)
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

40 <400> 244

```

gatatcgcac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc      60
tcgtgtacgg gtactagcag cgatgtgggc ggctataact atgtgagctg gtaccagcag      120
catcccgga aggcgcgcaa actgatgatt tatgatgtga gcaaccgtcc ctcaggcgtg      180
agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgcga gctgaccat tagcggcctg      240
caagcgggaag acgaagcggg ttattattgc cagnnngatn nnnnnnnnnn nnnnnnngtg      300
tttggcggcg gcacgaagtt aaccgttctt ggcacg                                             336

```

ES 2 590 684 T3

<210> 245
 <211> 327
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética; VL lambda3

10

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (265)..(267)
 <223> nnn = TGT, TTT, CAT, CGT, TGG o TAT

15

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (286)..(288)
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

20

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (280)..(285)
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT o una supresión

25

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (271)..(279)
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

30

<400> 245

```

gatatogaac tgaccocagec gccttcagtg agcgttgcaac caggtcagac cgcgcgtatc      60
tcgtgtagcg gcgatgcgct gggcgataaa tacgcgagct ggtaccagca gaaaccocggg      120
caggcgcocag ttctgggtgat tstatgatgat tctgaccgtc cctcaggcat cccggaaocgc      180
tttagcggat ccaacagcgg caacaccgcg accctgacca ttagcggcac tcaggcggaa      240
gacgaagcgg atattatttg ccagnnngat nnnnnnnnnn nnnnnnnngt gtttgcgggc      300
ggcaocgaagt taaccgttct tggccag                                           327
  
```

35

<210> 246
 <211> 382
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

40

<220>
 <223> Construcción sintética; VH1A

45

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (345)..(347)
 <223> nnn = TTT, CAT, ATT, CTT, AAT, CCT, TCT, GTT, TGG o TAT

50

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (339)..(341)
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, ATT, CTT, ATG, CCT, CAG, TCT, ACT, GTT o TAT

<220>

ES 2 590 684 T3

<221> misc_feature
 <222> (336)..(338)
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

5

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (295)..(335)
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT o una supresión

10

<400> 246

cagggtgcaat tggttcagtc tggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtg 60
 agctgcaaag cctccggagg cacttttagc agctatgcga ttagctgggt gcgccaagcc 120
 cctgggcagg gtctcgagtg gatgggcggc attattccga tttttggcac ggcgaactac 180

 ggcgagaagt ttcagggccg ggtgaccatt accgcggatg aaagcaccag caccgcgtat 240
 atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtnnnnnn 300
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn ngatnnntgg ggccaaggca 360
 cctgggtgac ggttagctca gc 382

15

<210> 247
 <211> 383
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

20

<220>
 <223> Construcción sintética; VH1B

25

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (346)..(348)
 <223> nnn = TTT, CAT, ATT, CTT, AAT, CCT, TCT, GTT, TGG o TAT

30

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (295)..(336)
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT o una supresión

35

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (337)..(339)
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

40

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (340)..(342)
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, ATT, CTT, ATG, CCT, CAG, TCT, ACT, GTT o TAT

45

<400> 247

ES 2 590 684 T3

caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagtg 60
 agctgcaaag cctccggata taccttracc agctattata tgcactgggt ccgccaagcc 120
 cctgggcagg gtctcagagt gatgggctgg attaacccga atagcggcgg cacgaactac 180
 gcgcagaagt ttcagggccg ggtgaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgcat 240
 atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgocg gcgtnnnnnn 300
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngatnnntg gggccaaggg 360
 accctggtga cggtttagctc agc 383

5 <210> 248
 <211> 386
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética; VH2

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (349)..(351)
 <223> nnn = TTT, CAT, ATT, CTT, AAT, CCT, TCT, GTT, TGG o TAT

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (298)..(339)
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT o una supresión

25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (340)..(342)
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (343)..(345)
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, ATT, CTT, ATG, CCT, CAG, TCT, ACT, GTT o TAT

<400> 248

caggtgcaat tgaaagaaag cggcccggcc ctggtgaaac cgacccaaac cctgaccctg 60
 acctgtacct tttccggatt tagectgtcc acgtctggcg ttggcgtggg ctggattcgc 120
 cagccgcctg ggaaagccct cgagtggctg getctgattg attgggatga tgataagtat 180
 tatagcacca gcctgaaaac gcgtctgacc attagcaaag atacttcgaa aaatcaggtg 240
 gtgctgacta tgaccaacat ggaccocggtg gatacggcca cctattattg cgcgcgtnnn 300
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnngatnn ntggggccaa 360
 ggcaccctgg tgacggttag ctcagc 386

35 <210> 249
 <211> 349

ES 2 590 684 T3

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5
 <220>
 <223> Construcción sintética; VH3

10
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (314)..(314)
 <223> n = TTT, CAT, ATT, CTT, AAT, CCT, TCT, GTT, TGG o TAT

15
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (295)..(308)
 <223> n = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, C CT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT o una supresión

20
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (309)..(309)
 <223> n = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, C CT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

25
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (310)..(310)
 <223> n = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, ATT, CTT, ATG, CCT, CAG, TCT, ACT, G TT o TAT

30
 <400> 249

```

caggtgcaat tggtgaaag cggcggcggc ctggtgcaac cgggcggcag cctgcgtctg      60
agctgcgcgg cctccggatt taccttagc agctatgcga tgagctgggt gcgccaaagcc    120
cctgggaagg gtctcgagtg ggtgagcgcg attagcggta gcggcggcag cacctattat    180
gcggatagcg tgaaaggccg ttttaccatt tcacgtgata attcgaaaaa caccctgtat    240
ctgcaaatga acagcctgcg tgcggaagat acggccgtgt attattgcgc gogtnnnnnn    300
nnnnnnnnnn gatntggggc caaggcacc cggtgacggt tagctcagc                    349
  
```

35
 <210> 250
 <211> 346
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

40
 <220>
 <223> Construcción sintética; VH4

45
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (311)..(311)
 <223> n = TTT, CAT, ATT, CTT, AAT, CCT, TCT, GTT, TGG o TAT

50
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (292)..(305)
 <223> n = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, C CT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT o una supresión

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (306)..(306)

ES 2 590 684 T3

<223> n = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

<220>

5 <221> misc_feature

<222> (307)..(307)

<223> n = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, ATT, CTT, ATG, CCT, CAG, TCT, ACT, G TT o TAT

<400> 250

10

```

caggtgcaat tgcaagaaag tggtcggggc ctgggtgaaac cgagcgaaac cctgagcctg      60
acctgcaccg tttccggagg cagcattagc agctattatt ggagctggat tcgccagccg      120
cctgggaagg gtctcgagtg gattggctat atttattata ggggcagcac caactataat      180
ccgagcctga aaagccgggt gaccattagc gttgatactt cgaaaaacca gtttagcctg      240
aaactgagca gcgtgacggc ggccgatacg gccgtgtatt attgcgcgcg tnnnnnnnnn      300
nnnnnnngat ntggggccaa ggcaccctgg tcacggttag ctcagc                        346

```

<210> 251

<211> 349

15 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Construcción sintética; VH5

20

<220>

<221> misc_feature

<222> (314)..(314)

<223> n = TTT, CAT, ATT, CTT, AAT, CCT, TCT, GTT, TGG o TAT

25

<220>

<221> misc_feature

<222> (295)..(304)

<223> n = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, C CT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT o una supresión

30

<220>

<221> misc_feature

<222> (305)..(307)

<223> n = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, C CT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

35

<220>

<221> misc_feature

<222> (308)..(310)

<223> n = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, ATT, CTT, ATG, CCT, CAG, TCT, ACT, G TT o TAT

40

<400> 251

ES 2 590 684 T3

cagggtgcaat tgggtcagag cggcgogggaa gtgaaaaaac cgggogaaag cctgaaaatt 60
 agctgcaaag gttccggata ttcctttacg agctattgga ttggctgggt gcgccagatg 120
 cctgggaagg gtctcgagtg gatgggcatt atttatccgg gcgatagoga taccogttat 180
 tctccgagct ttcagggcca ggtgaccatt agcgogggata aaagcattag caccogctat 240
 cttcaatgga gcagcctgaa agcgagcgat acggccatgt attattgcgc gcgtnnnnnn 300
 nnnnnnnnn gatntggggc caaggcaccc tgggtgacggt tagctcage 349

5 <210> 252
 <211> 392
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética; VH6

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (355)..(357)
 <223> nnn = TTT, CAT, ATT, CTT, AAT, CCT, TCT, GTT, TGG o TAT

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (304)..(345)
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT o una supresión

25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (346)..(348)
 <223> nnn = GCT, TGT, GAT, GAG, TTT, GGT, CAT, ATT, AAG, CTT, ATG, AAT, CCT, CAG, CGT, TCT, ACT, GTT, TGG o TAT

30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (349)..(351)
 <223> nnn = GCT, GAT, GAG, TTT, GGT, ATT, CTT, ATG, CCT, CAG, TCT, ACT, GTT o TAT

<400> 252

cagggtgcaat tgcaacagtc tgggtccgggc ctgggtgaaac cgagccaaac cctgagcctg 60
 acctgtgoga tttccggaga tagcgtgagc agcaacagcg cggcgtggaa ctggattcgc 120
 cagtcctcctg ggcggtggcct cgagtggtctg ggcogtacct attatcgtag caaatggtat 180
 aacgattatg cgggtgagcgt gaaaagccgg attaccatca acccggatac ttcgaaaaac 240
 cagtttagcc tgcaactgaa cagcgtgacc ccggaagata cggcogtgta ttattgcgcg 300
 cgtannnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn rnnnnnnnnn nnnnnnnnnr ngatannntgg 360
 ggccaaggca cctcgggtgac ggttagctca gc 392

40 <210> 253
 <211> 4151
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

ES 2 590 684 T3

<220>

<223> Construcción sintética; pMORPH 18 Fab_5'

5

<400> 253

tctagataac gagggcaaaa aatgaaaasag acagctatcg cgattgcagt ggcactggct	60
ggtttcgcta ccgtagcgca ggccgatatc gtgctgacct agagcccggc gaccctgagc	120
ctgtctccgg gcgaacgtgc gaccctgagc tgcagagcga gccagagcgt gagcagcagc	180
tatctggcgt ggtaccagca gaaaccaggc caagcaccgc gtctattaat ttatggcgcg	240
agcagccgtg caactggggc cccggcgcgt tttagcggct ctggatccgg cacggatfff	300
accctgacca ttagcagcct ggaacctgaa gactttgcgg tgtattattg ccagcagcat	360
tataccaccg cggccgacct tggccagggt acgaaagttg aaattaaacg tacggtggct	420
gctccgagcg tgtttatfff tccgccgagc gatgaacaac tgaaaagcgg cacggcgagc	480
gtggtgtgcc tgctgaacaa cttttatccg cgtgaagcga aagttcagtg gaaagtagac	540
aacgcgctgc aaagcggcaa cagccaggaa agcgtgacct aacaggatag caaagatagc	600
acctattctc tgagcagcac cctgacctg agcaaagcgg attatgaaaa acataaagtg	660
tatgcgtgcg aagtgacct tcaaggtctg agcagcccgg tgactaaatc ttttaatcgt	720
ggcgaggcct gataagcatg cgtaggagaa aataaaatga aacaaagcac tattgcaactg	780
gcactcttac cgttgctctt caccctgtt accaaagccg aagtgcaatt ggtggaaagc	840
ggcggcggcc tgggtgcaacc gggcggcagc ctgctctgca gctgcgcggc ctccggatff	900
acctttagca gctatgcgat gagctgggtg cgccaagccc ctgggaaggg tctcgagtgg	960
gtgagcgcga ttagcggtag cggcggcagc acctattatg cggatagcgt gaaagccgt	1020
tttaccatff cacgtgataa ttcgaaaaac acctgtatc tgcaaatgaa cagcctgcgt	1080

ES 2 590 684 T3

gcggaagata cggccgtgta ttattgocgc cgttggggcg gcgatggctt ttatgcgatg 1140
 gattattggg gcccaaggcac cctgggtgaag gttagctcag cgtcgaccaa aggtccaagc 1200
 gtgtttccgc tggctccgag cagcaaaaagc accagcggcg gcacggctgc cctgggctgc 1260
 ctggttaaag attatttccc ggaaccagtc accgtgagct ggaacagcgg ggocctgacc 1320
 agcggcgtgc atacctttcc ggccggtgctg caaagcagcg gcctgtatag cctgagcagc 1380
 gttgtgacog tgcogagcag cagccttaggc actcagacct atatttgcaa cgtgaacat 1440
 aaaccgagca acaccaaagt ggataaaaaa gtggaaccga aaagcgaatt cgggggaggg 1500
 agcgggagcg gtgattttga ttatgaaaag atggcaaacc ctaataaggg ggctatgacc 1560
 gaaaatgccg atgaaaacgc gctacagctc gacgcataag gcaaacttga ttctgtcct 1620
 actgattacg gtgctgctat cgatggtttc attgggtgacg ttcccgccct tgctaattgt 1680
 aatgggtgcta ctgggtgattt tgcctggctct aattcccaa tggctcaagt cggtgacgg 1740
 gataattcac ctttaatgaa taatttccgt caatatttac ctccctccc tcaatcggtt 1800
 gaatgtccgc cttttgtctt tggcgcctgg aaaccatag aattttctat tgattgtgac 1860
 aaaataaact tattccgtgg tgtctttgcg tttcttttat atgttgcac ctttatgtat 1920
 gtattttcta cgtttgctaa cactactcgt aataaggagt cttgataagc ttgacctgtg 1980
 aagtgaaaaa tggcgcagat tgtgogacat ttttttgcg tgcctttaa tgaattgta 2040
 aaocgtaata ttttgttaaa attcgcgta aattttgtt aaatcagctc atttttaac 2100
 caataggcog aaatcggcaa aatcccttat aaatcaaaag aatagaccga gatagggtg 2160
 agtgctgttc cagtttgga caagagtcca ctattaaaga acgtggactc caacgtcaaa 2220
 gggcgaaaaa ccgtctatca gggcgatggc cactacgag aaccatcacc ctaatcaagt 2280
 tttttggggc cgaggtgccg taaagcaact aatcggaaac ctaaagggag cccocgattt 2340
 agagcttgac ggggaaagcc ggogaacgtg gcgagaaagg aagggaagaa agcgaaggga 2400
 gggggcgtca gggcgcctggc aagtgtagcg gtcacgctgc gcgtaaacac cacaccgcc 2460
 gcgcttaatg cgcogctaca gggcgcgtgc tagccatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg 2520
 ccaggaacog taaaaaggcc gcgcttgcctg cgtttttcca taggctccgc cccctgacg 2580
 agcatcaca aaatcgaagc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat 2640
 accagggcgt tcccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgcoctta 2700
 ccggatacct gtcoccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct 2760
 graggatatc cagttcggcg taggtcgttc gctccaagct gggctgtctg cacgaacccc 2820
 ccgttcagtc cgcocgctgc gcottatccg gtaactatcg tcttgagctc aacccggtaa 2880

ES 2 590 684 T3

gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg 2940
taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggg ggcctaacta cggctacact agaagaacag 3000
tatttggtat ctgcgctctg ctgtagccag ttacctcgg aaaaagagtt ggtagctctt 3060
gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta 3120
cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc 3180
agtggaacga aaactcacgt taagggattt tggtcagatc tagcaccagg cgtttaaggg 3240
caccaataac tgccttaaaa aaattacgcc ccgccctgcc actcatcgca gtactgttgt 3300
aattcattaa gcattctgcc gacatggaag ccatcacaaa cggcatgatg aacctgaatc 3360
gccagoggca tcagcacctt gtcgccttgc gtataatatt tgcccatagt gaaaacgggg 3420
gccaagaagt tgtccatatt ggctacgttt aaatcaaac tggtgaaact caccagggga 3480
ttggctgaga cgaaaaacat attctcaata aaccctttag ggaaataggc caggttttca 3540
ccgtaacacg ccacatcttg cgaatatatg tgtagaaact gccggaaatc gtcgtggtat 3600
tcaactccaga gcgatgaaaa cgtttcagtt tgctcatgga aaacggtgta acaaggggta 3660
acactatccc atatcaccag ctccacctct ttcatcgcca tacgggaactc cgggtgagca 3720
ttcatcaggc gggcaagaat gtgaataaag gccggataaa acttgtgctt atttttcttt 3780
acggctctta aaaaggccgt aatatccagc tgaacggctc gggtataggt acattgagca 3840
actgactgaa atgcctcaaa atgttcttta cgatgccatt gggatatatc aacggtggtgta 3900
tatccagtga tttttttctc catttttagct tccttagctc ctgaaaatct cgataactca 3960
aaaaatacgc ccggtagtga tcttatttca ttatggtgaa agttggaacc tcaccgacg 4020
tctaattgtga gttagctcac tcattaggca cccaggctt tacactttat gcttcggct 4080
cgtatgttgt gtggaattgt gagcggataa caatttcaca caggaaacag ctatgaccat 4140
gattacgaat t 4151

<210> 254
<211> 638
5 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
10 <223> Construcción sintética; pMORPH18_Proteína Fab

<400> 254

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala
1 5 10 15

ES 2 590 684 T3

Thr Val Ala Gln Ala Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu
 20 25 30

Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln
 35 40 45

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

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

Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 85 90 95

Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
 100 105 110

His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val 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 Ala Met Lys Gln Ser
 225 230 235 240

Thr Ile Ala Leu Ala Leu Leu Pro Leu Leu Phe Thr Pro Val Thr Lys
 245 250 255

ES 2 590 684 T3

Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 260 265 270

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser
 275 280 285

Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 290 295 300

Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
 305 310 315 320

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu
 325 330 335

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 340 345 350

Cys Ala Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 355 360 365

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 370 375 380

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 385 390 395 400

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 405 410 415

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 420 425 430

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 435 440 445

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 450 455 460

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Glu
 465 470 475 480

Phe Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala

ES 2 590 684 T3

				485						490					495
Asn	Ala	Asn	Lys	Gly	Ala	Met	Thr	Glu	Asn	Ala	Asp	Glu	Asn	Ala	Leu
			500					505					510		
Gln	Ser	Asp	Ala	Lys	Gly	Lys	Leu	Asp	Ser	Val	Ala	Thr	Asp	Tyr	Gly
		515					520					525			
Ala	Ala	Ile	Asp	Gly	Phe	Ile	Gly	Asp	Val	Ser	Gly	Leu	Ala	Asn	Gly
	530					535					540				
Asn	Gly	Ala	Thr	Gly	Asp	Phe	Ala	Gly	Ser	Asn	Ser	Gln	Met	Ala	Gln
545					550					555					560
Val	Gly	Asp	Gly	Asp	Asn	Ser	Pro	Leu	Met	Asn	Asn	Phe	Arg	Gln	Tyr
				565					570					575	
Leu	Pro	Ser	Leu	Pro	Gln	Ser	Val	Glu	Cys	Arg	Pro	Phe	Val	Phe	Gly
			580					585					590		
Ala	Gly	Lys	Pro	Tyr	Glu	Phe	Ser	Ile	Asp	Cys	Asp	Lys	Ile	Asn	Leu
		595					600					605			
Phe	Arg	Gly	Val	Phe	Ala	Phe	Leu	Leu	Tyr	Val	Ala	Thr	Phe	Met	Tyr
	610					615					620				
Val	Phe	Ser	Thr	Phe	Ala	Asn	Ile	Leu	Arg	Asn	Lys	Glu	Ser		
625					630					635					

<210> 255
 <211> 5020
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética; pMORPH x9

10

<400> 255

```

atcgtgctga cccagccgcc ttcagtgagt ggcgcaccag gtcagcgtgt gaccatctcg      60
tgtagcggca gcagcagcaa cattggcagc aactatgtga gctggtacca gcagttgccc      120
gggacggcgc cgaaactgct gatttatgat aacaaccagc gtcacctcagg cgtgccggat      180
cgttttagcg gatccaaaag cggcaccagc gcgagccttg cgattacggg cotgcaaagc      240
gaagacgaag cggattatta ttgccagagc tatgacatgc ctcaggctgt gtttgccggc      300
ggcaogaagt ttaaccgttc ttggccagcc gaaagccgca ccgagtgtga cgctgtttcc      360
  
```

ES 2 590 684 T3

gccgagcagc gaagaattgc aggcgaacaa agcgaccctg gtgtgcctga ttagcgactt 420
 ttatccggga gccgtgacag tggcctggaa ggcagatagc agccccgtca aggcgggagt 480
 ggagaccacc acaccctcca aacaaaagca caacaagtac gcggccagca gctatctgag 540
 cctgacgocct gagcagtgga agtcccacag aagctacagc tgccagggtca cgcattgaggg 600
 gagcacctg gaaaaaaccc ttgcgcgcac tgaggcctga taagcatgcg taggagaaaa 660
 taaaatgaaa caaagcacta ttgcactggc actcttaccg ttgctcttca ccctgtttac 720
 caaagcccag gtgcaattga aagaaaagcg cccggccctg gtgaaaccga cccaaacctt 780
 gacctgacc tgtacctttt cggatttag cctgtccacg tctggcgctg gctggggctg 840
 gattcgccag ccgcctggga aagccctcga gtggctggct ctgattgatt gggatgatga 900
 taagtattat agcaccagcc tgaaaaagcg tctgaccatt agcaaagata cttcgaaaaa 960
 tcaggtgggtg ctgactatga ccaacatgga cccggtggtat acggccacct attattgcgc 1020
 gegtctcct cgttatcgtg gtgcttttga ttattggggc caaggcacc tggtgacggt 1080
 tagctcagcg tcgaccaaag gtccaagcgt gtttcgcctg gctccgagca gcaaaagcac 1140
 cagcggcggc acggtgccc tgggctgcct ggttaaagat tatttccgg aaccagtca 1200
 cgtgagctgg aacagcgggg cgtgaccag cggcgtgcat accttccgg cgtgctgca 1260
 aagcagcggc ctgtatagcc tgagcagcgt tgtgaccgtg ccgagcagca gcttaggcac 1320
 tcagacctat atttgcaacg tgaaccataa accgagcaac accaaagtgg ataaaaaagt 1380
 ggaaccgaaa agcgaattcg actataaaga tgacgatgac aaaggcgcgc cgtggagcca 1440
 cccgcagttt gaaaaatgat aagcttgacc tgtgaagtga aaaatggcgc agattgtgcg 1500
 acatTTTTTT tgtctgccgt ttaattaaag gggggggggg gccggcctgg gggggggtgt 1560
 acatgaaatt gtaaacgtta atatTTTgtt aaaattcgcg ttaaTTTTTT gttaaatcag 1620
 ctcatTTTTT aaccaatagg ccgaaatcgg caaaatccct tataaatcaa agaatagac 1680
 cgagataggg ttgagtgttg ttccagtttg gaacaagagt ccaactattaa agaactgga 1740
 ctccaacgtc aaagggcgaa aaaccgtcta tcagggcgat ggcccactac gagaaccatc 1800
 accctaatca agTTTTTTgg ggtcgaggtg ccgtaaagca ctaaactcga accctaaagg 1860
 gagccccga ttttagagctt gacggggaaa gccggcgaac gtggcgagaa aggaagggaa 1920
 gaaagcgaaa ggagcggggc ctagggcgct ggcaagtgtg gcggtcacgc tgcgcgtaac 1980
 caccacacc gccgcgctta atgcgcgcct acagggcgcg tgctagacta gtgtttaaac 2040
 cggaccgggg gggggcttaa gtgggctgca aaacaaaacg gcctcctgtc aggaagccgc 2100

ES 2 590 684 T3

ttttatcggg tagcctcact gcccgctttc cagtcgggaa acctgtcgtg ccagctgcat 2160
 cagtgaatcg gccaacgcgc ggggagaggc ggtttgcgta ttgggagcca ggggtggttt 2220
 tcttttcacc agtgagacgg gcaacagctg attgcccttc accgcctggc cctgagagag 2280
 ttgcagcaag cggccacgc tggtttgccc cagcaggcga aaatcctggt tgatggtggt 2340
 cagcggcggg atataacatg agctgtcttc ggtatcgtcg tatcccacta ccgagatgtc 2400
 cgcaccaacg cgcagcccg actcggtaat ggcacgcatt gcgcccagc ccctcgtatc 2460
 gttggcaacc agcatcgcag tgggaacgat gccctcattc agcatttgc tggtttgttg 2520
 aaaaccggac atggcaactc agtcgccttc ccgttcocgt atcggctgaa tttgattgcg 2580
 agtgagatat ttatgccagc cagccagacg cagaocgcgc gagacagaac ttaatgggcc 2640
 agctaacagc gcgatttgcg ggtggcccaa tgcgaccaga tgctccacgc ccagtcgcgt 2700
 accgtcctca tgggagaaaa taatactggt gatgggtgtc tggtcagaga catcaagaaa 2760
 taacgccgga acattagtgc aggcagcttc cacagcaata gcatacctggt catccagcgg 2820
 atagttaata atcagcccac tgacacgttg cgcgagaaga ttgtgcaccg ccgctttaca 2880
 ggcttcgagc ccgcttcggt ctaccatcga caogaccacg ctggcaacca gttgatcggc 2940
 gcgagattta atcgcgcgca caatttgcga cggcgcgtgc agggccagac tggaggtggc 3000
 aacgccaatc agcaacgact gtttgccgc cagttgttgt gccacgcggt taggaatgta 3060
 attcagctcc gccatcgcgc ctccacttt ttcccgcgtt ttgcagaaa cgtggctggc 3120
 ctggttcacc accgcggaaa cggctcgcga agagacaccg gcatactctg cgacatcgt 3180
 taacgttact ggtttcacat tcaccacct gaattgaetc tcttcgggc gctatcatgc 3240
 cataccgoga aaggttttgc gccattcgt gctagccatg tgagcaaaag gccagcaaaa 3300
 ggccaggaac cgtaaaaagg ccgcgttgcg ggcgttttcc catagctcc gcccccctga 3360
 cgagcatcac aaaaatcgac gctcaagtoa gaggtggcga aaccgcagc gactataaag 3420
 ataaccaggc tttcccctg gaagctccct cgtgcgcctc cctgttcga cctgcocgt 3480
 taccggatac ctgtccgct ttctcccttc gggagcgtg gcgctttctc atagctcacg 3540
 ctgtaggat ctacgttcgg tgtaggctgt tcgctccaag ctgggctgtg tgcacgaacc 3600
 ccccgctcag cccgaocgt gcgccttctc cggtaactat cgtcttgagt ccaaccgggt 3660
 aagacacgac ttatcgccac tggcagcagc cactggtaac aggattagca gagcaggtga 3720
 tgtaggcggg gctacagagt tcttgaagtg gtggccctaac tacggctaca ctagaagaac 3780
 agtatctggt atctgcgctc tgctgtagcc agttaccttc ggaaaaagag ttggtagctc 3840
 ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag cgggtggttt tttgattgca agcagcagat 3900

ES 2 590 684 T3

taogcgcaga aaaaaaggat ctcaagaaga tcoctttgatc ttttctacgg ggtctgacgc 3960
 tcagtggAAC gaaaactcac gttAagggat tttggtcaga tctagcacca ggcgtttaag 4020
 ggcaccaata actgccttaa aaaaattacg ccccgccctg ccactcatcg cagtactgtt 4080
 gtaattcatt aagcattctg ccgacatgga agccatcaca aacggcatga tgaacctgaa 4140
 tcgccagcgg catcagcacc ttgtgcctt gcgtataata tttgcccata gtgaaaacgg 4200
 gggcgaagaa gttgtccata ttggtacgt ttaaatacaa actggtgaaa ctcaaccagg 4260
 gattggctga gacgaaaaac atattctcaa taaacctttt agggaaatag gccaggtttt 4320
 caccgtaaca cgccacatct tgcgaatata tgtgtagaaa ctgccgaaa tcgtctgtgt 4380
 attcaactca gagcgatgaa aacgtttcag tttgctcatg gaaaacgggtg taacaagggt 4440
 gaacactatc coatatcacc agctcaccgt ctttcattgc catacggaac tccgggtgag 4500
 cattcatcag gcgggcaaga atgtgaataa aggcgggata aaacttgtgc ttatttttct 4560
 ttacggtctt taaaaaggcc gtaatatoca gctgaacgggt ctggttatag gtacattgag 4620
 caactgactg aaatgcctca aaatgttctt tacgatgccA ttgggatata tcaacgggtg 4680
 tataatccagt gatTTTTTtC tccatttttag ctctcttagc tctgaaaaat ctcgataact 4740
 caaaaaatac gcccggtagt gatcttattt cattatgggtg aaagttggaa cctcaccoga 4800
 cgtctaattgt gagttagctc actcattagg caccocaggc tttacacttt atgcttccgg 4860
 ctcgtatgtt gtgtggaatt gtgagcggat aacaatttca cacaggaaac agctatgacc 4920
 atgattaoga atttctagat aacgagggca aaaaatgaaa aagacagcta tcgcgattgc 4980
 agtggcactg gctggtttcg ctaccgtagc gcaggccgat 5020

5 <210> 256
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 10 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 256

Ala Glu Phe Arg His Asp Cys
 1 5

15 <210> 257
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 257

ES 2 590 684 T3

Glu Phe Arg His Asp Ser Cys
1 5

5 <210> 258
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 258

Phe Arg His Asp Ser Gly Cys
1 5

15 <210> 259
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 259

Arg His Asp Ser Gly Tyr Cys
1 5

25 <210> 260
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> Construcción sintética

35 <400> 260

His Asp Ser Gly Tyr Glu Cys
1 5

40 <210> 261
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética

<900> 261

Asp Ser Gly Tyr Glu Val Cys
1 5

50 <210> 262
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

55

ES 2 590 684 T3

<220>
<223> Construcción sintética

5 <400> 262

Ser Gly Tyr Glu Val His Cys
1 5

<210> 263
<211> 7
10 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
15 <223> Construcción sintética

<400> 263

Tyr Glu Val His His Gln Cys
1 5

20 <210> 264
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 264

Glu Val His His Gln Lys Cys
1 5

30 <210> 265
<211> 7
35 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética

40 <400> 265

Val His His Gln Lys Leu Cys
1 5

45 <210> 266
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

50 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 266

ES 2 590 684 T3

His His Gln Lys Leu Val Cys
1 5

5 <210> 267
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
10 <223> Construcción sintética

<400> 267

His Gln Lys Leu Val Phe Cys
1 5

15 <210> 268
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 268

Gln Lys Leu Val Phe Phe Cys
1 5

25 <210> 269
<211> 7
<212> PRT
30 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética

35 <400> 269

Lys Leu Val Phe Phe Ala Cys
1 5

40 <210> 270
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
45 <223> Construcción sintética

<400> 270

Leu Val Phe Phe Ala Glu Cys
1 5

50 <210> 271
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

55 <220>

ES 2 590 684 T3

<223> Construcción sintética
<400> 271

5 Val Phe Phe Ala Glu Asp Cys
1 5

<210> 272
<211> 7
<212> PRT
10 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética

15 <400> 272

Phe Phe Ala Glu Asp Val Cys
1 5

20 <210> 273
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
25 <223> Construcción sintética

<400> 273

Phe Ala Glu Asp Val Gly Cys
1 5

30 <210> 274
<211> 7

<212> PRT
35 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética

40 <400> 274

Ala Glu Asp Val Gly Ser Cys
1 5

45 <210> 275
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
50 <223> Construcción sintética

<400> 275

Glu Asp Val Gly Ser Asn Cys
1 5

55 <210> 276

ES 2 590 684 T3

<211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 276

10

Asp Val Gly Ser Asn Lys Cys
 1 5

15

<210> 277
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 277

25

Val Gly Ser Asn Lys Gly Cys
 1 5

30

<210> 278
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 278

35

Gly Ser Asn Lys Gly Ala Cys
 1 5

40

<210> 279
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

45

<400> 279

50

Cys Ser Asn Lys Gly Ala Ile
 1 5

55

<210> 280
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 280

ES 2 590 684 T3

Cys Asn Lys Gly Ala Ile Ile
1 5

5 <210> 281
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
10 <223> Construcción sintética

<400> 281

Cys Lys Gly Ala Ile Ile Gly
1 5

15 <210> 282
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 282

Cys Gly Leu Met Val Gly Gly
1 5

25 <210> 283
<211> 7
<212> PRT
30 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética

35 <400> 283

Cys Met Val Gly Gly Val Val
1 5

40 <210> 284
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
45 <223> Construcción sintética

<400> 284

Cys Gly Gly Val Val Ile Ala
1 5

50 <210> 285
<211> 6
<212> PRT
55 <213> Secuencia Artificial

ES 2 590 684 T3

<220>
<223> Construcción sintética; péptido 1 A beta

5 <400> 285

Ala Glu Phe Arg His Asp
1 5

<210> 286
<211> 7
10 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; péptido 2 A beta

15 <400> 286

Glu Phe Arg His Asp Ser Gly
1 5

20 <210> 287
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> Construcción sintética; péptido 3 A beta

<400> 287

Glu Phe Arg His Asp
1 5

30 <210> 288
<211> 4
<212> PRT
35 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; péptido 4 A beta

40 <400> 288

His Asp Ser Gly
1

45 <210> 289
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; péptido 5 A beta

50 <400> 289

His His Gln Lys Leu
1 5

55 <210> 290

ES 2 590 684 T3

<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

5 <220>
<223> Construcción sintética; péptido 6 A beta

<400> 290

10 Leu Val Phe Phe Ala Glu
1 5

<210> 291
<211> 6
<212> PRT
15 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; péptido 7 A beta

20 <400> 291

Val Phe Phe Ala Glu Asp
1 5

<210> 292
25 <211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
30 <223> Construcción sintética; péptido 8 A beta

<400> 292

Val Phe Phe Ala
1

35 <210> 293
<211> 6
<212> PRT
40 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética; péptido 9 A beta

<400> 293

45 Phe Phe Ala Glu Asp Val
1 5

<210> 294
50 <211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
55 <223> Construcción sintética

<400> 294

ES 2 590 684 T3

caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caacggggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60
 gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct gggcgcgcca agcccctggg 120
 aagggtctcg agtgggtgag cgttatttct gagaagtctc gttttattta ttatgctgat 180
 tctgttaagg gtcgttttac catttcaogt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtct tactcattat 300
 gctcgttatt atcgttattt tgatgtttgg ggccaaggca cctcgggtgac ggtagctca 360

5 <210> 295
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 10 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 295

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

15 <210> 296
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Construcción sintética

ES 2 590 684 T3

<400> 296

```

caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caacccggcg gcagcctggc totgagctgc      60
ggggcctcgc gatttaoctt tagcagctat gcgatgagct gggcgcgcca agcccctggg      120
aagggctctcg agtgggtgag cgtatattct gagacttcta ttcgtaagta ttatgctgat      180
totgttaagg gtogttttac caattcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa      240
atgaacagcc tcgctgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtct tactcattat      300
gctcgttatt atcgttattt tgatggttgg ggccaaggca cctggtgac ggttagctca      360

```

5

<210> 297
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10

<220>
 <223> Construcción sintética

15

<400> 297

```

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

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
20           25           30

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
35           40           45

Ile Ser Glu Thr Ser Ile Arg Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
50           55           60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
65           70           75           80

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115          120

```

<210> 298
 <211> 360
 <212> ADN

20

ES 2 590 684 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Construcción sintética

5

<400> 298

```

caattggtgg aaagcggcgg cggcctgggt caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc      60
goggcctccg gatttacctt tagcagctat gogatgagct gggtgcgcca agccccggg      120
aagggctctg agtgggtgag cgttatttct cagactggtc gtaagattta ttatgctgat      180
tctgtaagg gtcgttttac catttcacgt gataattoga aaaacacct gtatctgcaa      240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc ggtattatt gcgcgctct tactcattat      300
getcgttatt atcgttattt tgatgtttgg ggcoaaggca cctggtgac ggttagctca      360
    
```

10

<210> 299

<211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

15

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 299

```

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

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
20          25          30

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Val
35          40          45

Ile Ser Gln Thr Gly Arg Lys Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
50          55          60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
65          70          75          80

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115         120
    
```

20

ES 2 590 684 T3

5
<210> 300
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

10
<220>
<223> Construcción sintética

<400> 300

```
caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc      60
gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct gggtgcgcca agcccctggg      120
aagggctctg agtgggtgag cgttatttct cagactggtc gtaagattta ttatgctgat      180
tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa      240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtct tactcattat      300
gctcgttatt atcgttattt tgatgtttgg ggccaaggca ccctggtgac ggtagctca      360
```

15
<210> 301
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20
<220>
<223> Construcción sintética

<400> 301

ES 2 590 684 T3

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

5 <210> 302
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 302

caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccggggc gcagcctgcg tctgagctgc 60
 gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gogatgagct gggtgcgcca agcccctggg 120
 aagggctctcg agtgggtgag cgttatttct gagactggta agaatattta ttatgctgat 180
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtct tactcattat 300
 gctcgttatt atcgttattt tgatgtttgg ggccaaggca cctggtgac ggtagctca 360

15 <210> 303
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética

ES 2 590 684 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 305

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

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
 20 25 30

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Val
 35 40 45

Ile Ser Glu Thr Gly Lys Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 65 70 75 80

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

10 <210> 306
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Construcción sintética

20 <400> 306

caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60
 gcggcctcgg gatttacctt tagcagctat gogatgagct ggggtgcgcca agcccctggg 120
 aagggctctg agtgggtgag cgctatttct gagtctggta agactaagta ttatgctgat 180
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcggtct tactcattat 300
 gctcgttatt atcgttattt tgatgtttgg ggccaaggca cctggtgac ggtagctca 360

ES 2 590 684 T3

<210> 307
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 307

10

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

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
 20 25 30

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
 35 40 45

Ile Ser Glu Ser Gly Lys Thr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 65 70 75 80

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 308
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 308

ES 2 590 684 T3

```

caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc      60
gcggcctcog gatttacctt tagcagctat gcgatgagct gggtgcgcca agccctggg      120
aagggctctcg agtgggtgag cgtattaat ggtactggta tgaagaagta ttatgctgat      180
tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa      240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtgg taagggtaat      300
actcataagc cttatggtta tgttcgttat tttgatgttt ggggccaagg caccctggtg      360
acggttagct ca                                                                372

```

5 <210> 309
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 309

```

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

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
          20          25          30

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
          35          40          45

Ile Asn Gly Thr Gly Met Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 50          55          60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 65          70          75          80

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

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
          100          105          110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115          120

```

15 <210> 310
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética

ES 2 590 684 T3

<211> 372
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

5 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 312

```
caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tetgagctgc      60
gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct gggtgcgcca agccccctggg      120
aagggctctcg agtgggtgag cgctattaat gctgatggta atcgtaagta ttatgctgat      180
tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa      240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtgg taagggtaat      300
actcataagc cttatggtta tgttcgttat tttgatgttt ggggccaagg cacccctggtg      360
acggttagct ca                                                                372
```

10

<210> 313
<211> 124
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15

<220>
<223> Construcción sintética

20

<400> 313

ES 2 590 684 T3

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

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
 20 25 30

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
 35 40 45

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

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 65 70 75 80

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

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

5 <210> 314
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 314

caattgggtgg aaagcgggog cggeoctggtg caaccggggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60
 ggggcotccg gatttacctt tagcagctac gogatgagct ggggtgcgcca agccoctggg 120
 aagggtctcg agtgggtgag cgctattaat gctgatggta atcgtaagta ttatgctgat 180
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattoga aaaacacct gtatctgcaa 240
 atgaacagcc tgogtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtgg taagggtaat 300
 actcataagc cttatggta tgttcttat ttgatgttt ggggccaagg caccctggtg 360
 acggttagct ca 372

15 <210> 315
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>

ES 2 590 684 T3

<223> Construcción sintética

<400> 315

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

5

<210> 316

<211> 372

<212> ADN

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15

<400> 316

caattggtgg aaaggggagg cggcctggtg caaccggggc gcagcctgcg tctgagctgc 60
 gggcctcgcg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct gggtgcgcca agcccctggg 120
 aagggtctcg agtgggtgag cgctattaat gctaattggtt ataagaagta ttatgctgat 180
 tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgocgctgg taagggtaat 300
 actcataago cttatgggta tgttcgttat ttgatggtt ggggccaagg caccctgggtg 360
 acggttagct ca 372

<210> 317

<211> 124

20

ES 2 590 684 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 317

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

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
 20 25 30

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
 35 40 45

Ile Asn Ala Asn Gly Tyr Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 65 70 75 80

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

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

10 <210> 318
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Construcción sintética

20 <400> 318

ES 2 590 684 T3

```

caattggtgg aaagcggcgg cggcctgggtg caaccggggcg gcagcctgcg totgagctgc      60
gcggcctccg gatttacctt tagcagctat gcgatgagct gggtgcgcca agccccctggg      120
aaggggtctcg agtgggtgag cgctattaat gctaattggtt ataagaagta ttatgctgat      180
tctgttaagg gtcgttttac catstcaogt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa      240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtgg taagggtaat      300
actcataagc ottatggtta tgttcgttat tttgatgttt ggggccaagg caccctgggtg      360
acggttaagt ca                                                                372

```

5 <210> 319
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 319

```

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

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
 20           25           30

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
 35           40           45

Ile Asn Ala Asn Gly Tyr Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 50           55           60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 65           70           75           80

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

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 100          105          110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115          120

```

15 <210> 320
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

ES 2 590 684 T3

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 320

5

```

caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc      60
ggggcctccg gatttacett tagcagctat gcgatgagct gggtgcgcca agcccctggg      120
aagggctctcg agtgggtgag cgctattaat gctaattggtt ataagaagta ttatgctgat      180
tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa      240
atgaacagcc tcgctgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtgg taagggtaat      300
actcataagc cttatgggta tgttcggtat ttgatgttt ggggccaagg caccctggtg      360
acggttagct ca                                                                372
    
```

<210> 321

<211> 124

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

15

<400> 321

```

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

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
          20           25           30

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
          35           40           45

Ile Asn Ala Asn Gly Tyr Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
          50           55           60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
65           70           75           80

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

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
          100           105           110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115           120
    
```

ES 2 590 684 T3

5 <210> 322
 <211> 366
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética

10 <400> 322

```

caattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc      60
gcggcctcgc gatttacctt tagcagctat gcgatgagct gggtcgcgca agcccctggg      120
aagggtctcg agtgggtgag cgctatttct cgttctgggt ctaatattta ttatgctgat      180
tctgttaagg gtcgttttac catttcacgt gataattcga aaaacacctt gtatctgcaa      240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtct tctttctcgt      300
ggttataatg gttattatca taagtttgat gtttggggcc aaggcacctt ggtgaoggtt      360
agctca                                          366
  
```

15 <210> 323
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 323

```

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

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met
20          25          30

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
35          40          45

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

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
65          70          75          80
  
```

ES 2 590 684 T3

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

5 <210> 324
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 324

gatatogtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcga acgtgcgacc 60
 ctgagctgca gagcgagccg gcgtattcat gtttattatc tggcgtggta ccagcagaaa 120
 ccaggccaag cacogcgtct attaatttat ggcgcgagca gccgtgcaac tggggtcccg 180
 ggcggtttta ggcgctctgg atccggcaag gattttaccg tgaccattag cagcctggaa 240
 cctgaagact ttgcgactta ttattgccag cagacttatg attatcctcc tacctttggc 300
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

15 <210> 325
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 325

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Arg Ile His Val Tyr
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

25 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser

ES 2 590 684 T3

50

55

60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
65 70 75 80

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

5 <210> 326
<211> 330
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 326

gatatcgtgc tgacccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgcgacc 60
ctgagctgca gagcagagccg gcgtattcat gtttattatc tggcgtggta ccagcagaaa 120
ccaggtaaac caccgggtct attaatattat ggcgcgagca gccgtgcaac tggggtcccg 180
gcgcgtttta gcggctctgg atccggcaag gattttaccc tgaccattag cagcctggaa 240
cctgaagact ctgcgactta ttattgcccag cagacttatg attatcctcc tacctttggc 300
cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

15 <210> 327
<211> 110
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 327

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Arg Ile His Val Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

25

ES 2 590 684 T3

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
 65 70 75 80

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105 110

5 <210> 328
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 328

gatatcgtgc tgaccagag ccgggogacc ctgagcctgt ctccgggoga acgtgogacc 60
 ctgagctgca gagogagcca gogtcttgggt ogtctttatc tggcgtggta ccagcagaaa 120
 ccaggtcaag caccgcgtct attaatttat ggcgogagca gccgtgcaac tggggctccg 180
 gcgcgtttta ggggctctgg atccggcaag gattttaccc tgaccattag cagcctggaa 240
 cctgaagact ttgogactta ttattgocag cagacttatg attatcctcc tacctttggc 300
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

15 <210> 329
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 329

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Leu Gly Arg Leu
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

25

ES 2 590 684 T3

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
 65 70 75 80

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105 110

- 5 <210> 330
- <211> 330
- <212> ADN
- <213> Secuencia Artificial
- <220>
- 10 <223> Construcción sintética
- <400> 330

gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggoga acgtgcgacc 60
 ctgagctgca gagcgagccg gcgtattcat gtttattatc tggcgtggtg ccagcagaaa 120
 ccaggtcaag caccgcgtct attaatttat ggcgcgagca gcogtgcaac tggggteccg 180
 gcgcgtttta gcggtctctg atccggcacg gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240
 cctgaagact ttgogactta ttattgccag cagacttatg attatcctcc tacctttggc 300
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

- 15 <210> 331
- <211> 110
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial
- 20 <220>
- <223> Construcción sintética
- <400> 331

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Arg Ile His Val Tyr
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

25

ES 2 590 684 T3

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
 65 70 75 80

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105 110

5 <210> 332
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 332

gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccggggoga acgtgcgacc 60
 ctgagctgca gacgagagcc gcgatttcat gtttattatc tggcgtggta ccagcagaaa 120
 ccaggtoaag cacgcgctct attaatttat ggcgagagca gccgtgcaac tgggggcccg 180
 ggcggtttta ggggtcttgg atccggcaag gattttaccg tgaccattag cagcctggaa 240
 cctgaagact ttgcgactta ttattgccag cagacttatg attatcctcc tacctttggc 300
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

15 <210> 333
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 333

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Arg Ile His Val Tyr
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

25

ES 2 590 684 T3

35

40

45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
65 70 75 80

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

5 <210> 334
<211> 330
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 334

gatatcgtgc tgaccagag ccgggagacc ctgagcctgt ctccggggcga acgtgagacc 60
ctgagctgca gagcagagcca ggcctcttggc cgtctttatc tggcgtggta ccagcagaaa 120
ccaggtaaac caccgcgtct attaatttat ggcgcagagca gccgtgcaac tggggctccc 180
ggcgctttta gggcctctgg atccggcacc gatctttacc tgaccattag cagcctggaa 240
cctgaagact ttgcgactta ttattgccag cagacttatg attatcctcc tacctttggc 300
cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

15 <210> 335
<211> 110
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 335

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

25 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Leu Gly Arg Leu
20 25 30

ES 2 590 684 T3

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
 65 70 75 80

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105 110

5 <210> 336
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 336

gatatcgtgc tgaccacagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgogacc 60
 ctgagctgca gagcgagcca gtttattcag cgtttttatc tggcgtggta ccagcagaaa 120
 ccagggtcaag caccgcgtct attaatttat ggcgogagca gccgtgcaac tggggtcccg 180
 ggcggtttta gcggctctgg atccggcaag gattttaccc tgaccattag cagcctggaa 240
 cctgaagact ttgcggttta ttattgccag cagacttata attatcctcc tacctttggc 300
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

15 <210> 337
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 337

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

25 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Phe Ile Gln Arg Phe
 20 25 30

ES 2 590 684 T3

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
 65 70 75 80

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105 110

5 <210> 338
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 338

gatatcgtgc tgaoccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgogacc 60
 ctgagctgca gagcgagcca gtatgttgat cgtacttate tggcgtggta ccagcagaaa 120
 ccaggccaag caccogctct attaatatat ggcgogagca gccgtgcaac tggggtoccg 180
 gcgcgtttta gggctctgg atccggcaag gattttaccc tgaccattag cagcctggaa 240
 cctgaagaat ttgcgactta ttattgocag cagatttatt cttttctca tacctttggc 300
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtaag 330

15 <210> 339
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 339

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

25 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Asp Arg Thr
 20 25 30

ES 2 590 684 T3

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
 65 70 75 80

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

His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105 110

5 <210> 340
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 340

gatatcgtgc tgaccacagag ccgggogacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgacgacc 60
 ctgagctgca gagcgagcca gcgttttttt tataagtatc tggcgtggta ccagcagaaa 120
 ccaggtaaac cacocgctct attaatttct ggtttottota accgtgcaac tgggggtcccg 180
 ggcgctttta ggcgctctgg atccggcagc gatttttacc tgaccattag cagcctggaa 240
 cctgaagact ttgcggttta ttattgcctt caqctttata atattcctaa tacctttggc 300
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

15 <210> 341
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 341

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 i 5 10 15

25 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Phe Phe Tyr Lys

ES 2 590 684 T3

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Asp Arg Thr
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
 65 70 75 80

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

His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105 110

5 <210> 344
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 344

gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggoga acgtgcgacc 60
 ctgagctgca gagcgagcca gtatgttttt cgtcgttata tggcgtggta ccagcagaaa 120
 ccaggtcaag cacggcgctc attaatctt ggtttctcta accgtgcaac tggggctccg 180
 ggcggtttta ggggctctgg atccggcagc gattttacce tgaccattag cagcctggaa 240
 cctgaagact ctggcggtta ttattgcctt cagctttata atattcctaa tacctttggc 300
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

15 <210> 345
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 345

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

25

ES 2 590 684 T3

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Phe Arg Arg
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ser Asn Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro
 85 90 95

Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105 110

5 <210> 346
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 346

gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggoga acgtgogacc 60
 ctgagctgca gagcgagcca gtatgttgat cgtacttata tggcgtggta ccagcagaaa 120
 ccaggcaag caccgcgtct attaatat ggcgagagca gccgtgcaac tggggccccg 180
 gcgcgtttta ggggctctgg atccggcagc gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240
 cctgaagact ttgcgactta ttattgocag cagatttatt ctttctca tacctttggc 300
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

15 <210> 347
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 347

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

ES 2 590 684 T3

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Asp Arg Thr
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
 65 70 75 80

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

His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105 110

5 <210> 348
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 348

gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcca acgtgcgacc 60
 ctgagctgca gagcgagcca gcgtctttct cctcgttatc tggcgtggta ccagcagaaa 120
 ccagggtcaag caocgcgtct attaatttat ggcgcgagca gccgtgcaac tgggggtcccg 180
 gcgcgtttta gcggctctgg atccggcaag gattttacc tgaccattag cagcctggaa 240
 cctgaagact ttgcgactta ttattgcctt cagatttata atatgctat tacctttggc 300
 cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg 330

15 <210> 349
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 349

25 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

ES 2 590 684 T3

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

5 <210> 350
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 350

```

gatatcgtgc tgaccocagag ccgggogacc ctgagcctgt ctccgggoga acgtgogacc      60
ctgagctgca gagogagcca gtatgttttt cgtcgttata tggcgtggtgta ccagcagaaa      120
ccaggtsaag cacocogctct attaatttct ggttcttcta accgtgcaac tggggtcocog      180
gcgcgttitta gogcctctgg atccggcaag gattttaacc tgaccattag cagcctggaa      240
cctgaagact ctgogggtta ttattgocct cagctttata atattcctaa tacctttggc      300
cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg                                     330
  
```

15 <210> 351
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 351

ES 2 590 684 T3

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

5 <210> 352
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 352

```

gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccgggcga acgtgcgacc      60
ctgagctgca gagcgagcca gcgtgtttct ggtcgttata tggcgtggtc ccagcagaaa      120
ccaggtcaag caccgcgtct attaatatg ggcgcgagca gccgtgcaac tggggtcccg      180
gcgcgtttta gcggctctgg atccggcaag gatattacc cgaccattag cagcctggaa      240
cctgaagact ttgcgaetta ttattgccag cagctttctt cttatcctcc tacctttggc      300
cagggtacga aagttgaaat taaacgtacg                                     330
  
```

15 <210> 353
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 353

ES 2 590 684 T3

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Gly Arg
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
65 70 75 80

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

5 <210> 354
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 354
cttactcatt atgctcgta ttatcggtat tttgatgtt 39

15 <210> 355
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 355

25 Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val
1 5 10

30 <210> 356
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

35 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 356
cttactcatt atgctcgta ttatcggtat tttgatgtt 39

ES 2 590 684 T3

5 <210> 357
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética

10 <400> 357

Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val
1 5 10

15 <210> 358
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 358
cttactcatt atgctcgta ttatcggtat tttgatgtt 39

25 <210> 359
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 359

Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val
1 5 10

35 <210> 360
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Construcción sintética

45 <400> 360
cttactcatt atgctcgta ttatcggtat tttgatgtt 39

50 <210> 361
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

55 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 361

Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val
1 5 10

ES 2 590 684 T3

5 <210> 362
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética

10 <400> 362
cttactcatt atgctcgta ttatcggtat tttgatgtt 39

15 <210> 363
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 363

Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val
1 5 10

25 <210> 364
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> Construcción sintética

35 <400> 364
cttactcatt atgctcgta ttatcggtat tttgatgtt 39

40 <210> 365
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 365

Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val
1 5 10

50 <210> 366
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

55 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 366
cttactcatt atgctcgta ttatcggtat tttgatgtt 39

60 <210> 367
<211> 13
<212> PRT

ES 2 590 684 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética

5

<400> 367

Leu Thr His Tyr Ala Arg Tyr Tyr Arg Tyr Phe Asp Val
1 5 10

10

<210> 368
<211> 51
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

15

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 368
ggtaagggta atactcataa gccttatggt tatgttcggt atttgatgt t 51

20

<210> 369
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 369

30

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

35

<210> 370
<211> 51
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción sintética

40

<400> 370
ggtaagggta atactcataa gccttatggt tatgttcggt atttgatgt t 51

45

<210> 371
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

50

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 371

ES 2 590 684 T3

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

5 <210> 372
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 372
 ggtaagggta atactcataa gcctatggt tatgtcgtt atttgatgt t 51

15 <210> 373
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 373

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

25 <210> 374
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Construcción sintética

35 <400> 374
 ggtaagggta atactcataa gcctatggt tatgtcgtt atttgatgt t 51

40 <210> 375
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

45 <400> 375

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 376

ES 2 590 684 T3

<211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 376
 ggtaagggtatactcataa gccttatggt tatgttcggt atttgatgt t 51

10

<210> 377
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 377

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 1 5 10 15
 Val

<210> 378
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

25

<220>
 <223> Construcción sintética

30

<400> 378
 ggtaagggtatactcataa gccttatggt tatgttcggt atttgatgt t 51

35

<210> 379
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 379

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 1 5 10 15
 Val

45

<210> 380
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

50

<220>
 <223> Construcción sintética

ES 2 590 684 T3

<400> 380
 ggtaagggtataactcataa gccttatggt tatgttcggt atttgatgt t 51

5 <210> 381
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 381

Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

15 <210> 382
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética

25 <400> 382
 cttcttctc gtggtataa tgggtattat cataagttg atgtt 45
 <210> 383

30 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

35 <400> 383

Leu Leu Ser Arg Gly Tyr Asn Gly Tyr Tyr His Lys Phe Asp Val
 1 5 10 15

40 <210> 384
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 384
 cagcagactt atgattatcc toct 24

50 <210> 385
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 385

ES 2 590 684 T3

		Gln	Gln	Thr	Tyr	Asp	Tyr	Pro	Pro
		1				5			
5	<210> 386 <211> 24 <212> ADN <213> Secuencia Artificial								
10	<220> <223> Construcción sintética								
	<400> 386 cagcagactt atgattatcc toct							24	
15	<210> 387 <211> 8 <212> PRT <213> Secuencia Artificial								
20	<220> <223> Construcción sintética								
	<400> 387								
25		1				5			
30	<210> 388 <211> 24 <212> ADN <213> Secuencia Artificial								
	<220> <223> Construcción sintética								
35	<400> 388 cagcagactt atgattatcc toct							24	
40	<210> 389 <211> 8 <212> PRT <213> Secuencia Artificial								
45	<220> <223> Construcción sintética								
	<400> 389								
50	<210> 390 <211> 24 <212> ADN <213> Secuencia Artificial								
55	<220> <223> Construcción sintética								
60	<400> 390 cagcagactt atgattatcc toct							24	

ES 2 590 684 T3

5
 <210> 391
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

10
 <400> 391

Gln Gln Thr Tyr Asp Tyr Pro Pro
 1 5

15
 <210> 392
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

20
 <400> 392
 cagcagactt atgattatcc tctt 24

25
 <210> 393
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30
 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 393

Gln Gln Thr Tyr Asp Tyr Pro Pro
 1 5

35
 <210> 394
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

40
 <400> 394
 cagcagactt atgattatcc tctt 24

45
 <210> 395
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

50
 <400> 395

Gln Gln Thr Tyr Asp Tyr Pro Pro
 1 5

55
 <210> 396

ES 2 590 684 T3

<211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 396
 cagcagactt ataattatcc tcct 24

10

<210> 397
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 397

 Gln Gln Thr Tyr Asn Tyr Pro Pro
 1 5

<210> 398
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

25

<220>
 <223> Construcción sintética

30

<400> 398
 cagcagattt attctttcc tcat 24

35

<210> 399
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 399

 Gln Gln Ile Tyr Ser Phe Pro His
 1 5

45

<210> 400
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

50

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 400
 ctcagcttt ataattatcc taat 24

55

<210> 401
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60

ES 2 590 684 T3

<220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 401
 5

 Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro Asn
 1 . 5

 <210> 402
 <211> 24
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética
 15

 <400> 402
 cagcagattt attctttcc tcat 24

 <210> 403
 20 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 25 <223> Construcción sintética

 <400> 403

 Gln Gln Ile Tyr Ser Phe Pro His
 1 5
 30

 <210> 404
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 35

 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 404
 40 ctcagcttt ataattcc taat 24

 <210> 405
 <211> 8
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética
 50

 <400> 405

 Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro Asn
 1 5

 <210> 406
 55 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>

ES 2 590 684 T3

<223> Construcción sintética
 <400> 406
 cagcagattt attctttcc tcat 24
 5
 <210> 407
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 10
 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 407
 15
 Gln Gln Ile Tyr Ser Phe Pro His
 1 5
 <210> 408
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 20
 <220>
 <223> Construcción sintética
 25
 <400> 408
 cagcagattt attctttcc tcat 24
 30
 <210> 409
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35
 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 409
 Leu Gln Ile Tyr Asn Met Pro Ile
 1 5
 40
 <210> 410
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 45
 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 410
 cttcagcttt ataatttcc taat 24
 50
 <210> 411
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55
 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 411
 60

ES 2 590 684 T3

Leu Gln Leu Tyr Asn Ile Pro Asn
 1 5

5
 <210> 412
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10
 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 412
 cagcagcttt cttcttatcc toct 24

15
 <210> 413
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20
 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 413

Gln Gln Leu Ser Ser Tyr Pro Pro
 1 5

25
 <210> 414
 <211> 52
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30
 <220>
 <223> Construcción sintética

35
 <400> 414

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

Glu Val His His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser
 20 25 30

Asn Lys Gly Ala Ile Ile Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala
 35 40 45

Thr Val Ile Val
 50

REIVINDICACIONES

1. Una molécula de anticuerpo anti-péptido beta-A4 que comprende:

5 (a) una región variable VL que comprende regiones determinantes de complementariedad, L-CDR1, L-CDR2 y L-CDR3, en donde:

(1) L-CDR1 comprende SEQ ID NO: 143: Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala;

(2) L-CDR2 comprende SEQ ID NO: 144: Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr; y

10 (3) L-CDR3 comprende SEQ ID NO: 95: Leu Gln Ile Tyr Asn Met Pro Ile; y

(b) una región VH variable que comprende regiones determinantes de complementariedad, H-CDR1, H-CDR2 y CDR3, en donde:

15 (1) H-CDR1 comprende SEQ ID NO: 146: Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser;

(2) H-CDR2 comprende SEQ ID NO: 192: Ala Ile Asn Ala Ser Gly Thr Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly; y

(3) H-CDR3 comprende SEQ ID NO: 93: Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr Phe Asp Val.

20 2. La molécula de anticuerpo de la reivindicación 1, en donde dicha molécula de anticuerpo comprende una región VH variable como se muestra en una SEQ ID NO: 89 y una región VL variable como se muestra en una SEQ ID NO: 91.

25 3. La molécula de anticuerpo de la reivindicación 1 o 2, en donde dicha molécula de anticuerpo comprende una región VH variable codificada por una molécula de ácidos nucleicos como se muestra en una SEQ ID NO: 88 una región VL variable codificada por una molécula de ácidos nucleicos como se muestra en una SEQ ID NO: 90.

30 4. La molécula de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicha molécula de anticuerpo es un anticuerpo completo (inmunoglobulina), un fragmento F(ab), un fragmento F(ab)₂, un anticuerpo de cadena simple, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo injertado con CDR, una construcción de anticuerpo bivalente, un anticuerpo sintético o un anticuerpo de clonación cruzada.

35 5. Una molécula de ácidos nucleicos que codifica una molécula de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

6. Un vector que comprende la molécula de ácidos nucleicos de la reivindicación 5.

40 7. Una célula hospedadora que comprende el vector de la reivindicación 6.

8. Un método para la preparación de una molécula de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que comprende cultivar la célula hospedadora de la reivindicación 7 bajo condiciones que permiten la síntesis de dicha molécula de anticuerpo y recuperar dicha molécula de anticuerpo de dicho cultivo.

45 9. Una composición que comprende una molécula de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una molécula de anticuerpo producida por el método de la reivindicación 8.

10. La composición de la reivindicación 9, que es una composición farmacéutica o una composición de diagnóstico.

50 11. Uso de una molécula de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una molécula de anticuerpo producida por el método de la reivindicación 8, de una molécula de ácidos nucleicos de la reivindicación 5, de un vector de la reivindicación 6 o un hospedadora de la reivindicación 7 para la preparación de una composición farmacéutica para la prevención y/o tratamiento de una enfermedad asociada con amiloidogénesis y/o formación de placa de amiloide.

55 12. Una composición farmacéutica que comprende una molécula de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una molécula de anticuerpo producida por el método de la reivindicación 8, de una molécula de ácidos nucleicos de la reivindicación 5, de un vector de la reivindicación 6 o un hospedadora de la reivindicación 7 para su uso en la prevención y/o tratamiento de una enfermedad asociada con amiloidogénesis y/o formación de placa de amiloide.

60 13. Uso de una molécula de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una molécula de anticuerpo producida por el método de la reivindicación 8 para la preparación de una composición de diagnóstico para la detección de una enfermedad asociada con amiloidogénesis y/o formación de placa de amiloide.

65

14. Una composición de diagnóstico que comprende una molécula de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una molécula de anticuerpo producida por el método de la reivindicación 8 para su uso en la detección de una enfermedad asociada con amiloidogénesis y/o formación de placa de amiloide.
- 5 15. Uso de una molécula de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una molécula de anticuerpo producida por el método de la reivindicación 8 para la preparación de una composición farmacéutica para la desintegración de placas de β -amiloide.
- 10 16. Una composición farmacéutica que comprende una molécula de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una molécula de anticuerpo producida por el método de la reivindicación 8 para su uso en la desintegración de placas de β -amiloide.
- 15 17. Uso de una molécula de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una molécula de anticuerpo producida por el método de la reivindicación 8 para la preparación de una composición farmacéutica para la inmunización pasiva frente a formación de placa de β -amiloide.
- 20 18. Una composición farmacéutica que comprende una molécula de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una molécula de anticuerpo producida por el método de la reivindicación 8 para su uso en la inmunización pasiva frente a formación de placa de β -amiloide.
- 25 19. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 11, 13, 15 o 17, o la composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 12, o la composición de diagnóstico para el uso de la reivindicación 14, en donde dicha enfermedad es demencia, enfermedad de Alzheimer, neuropatía motora, síndrome de Down, enfermedad de Creutzfeldt Jacob, hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis tipo holandés, enfermedad de Parkinson, demencia relacionada con VIH, ELA o trastornos neuronales relacionados con la vejez.

Fig. 1b cont.

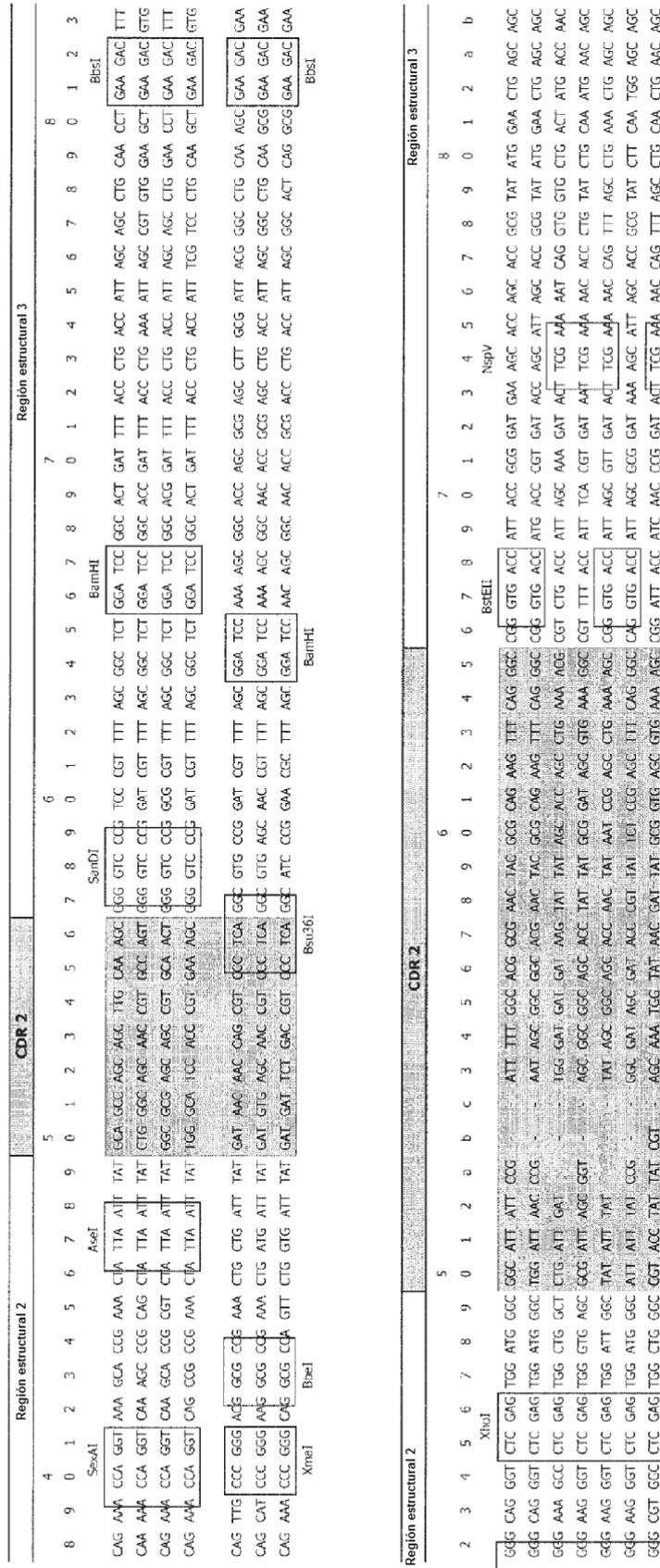
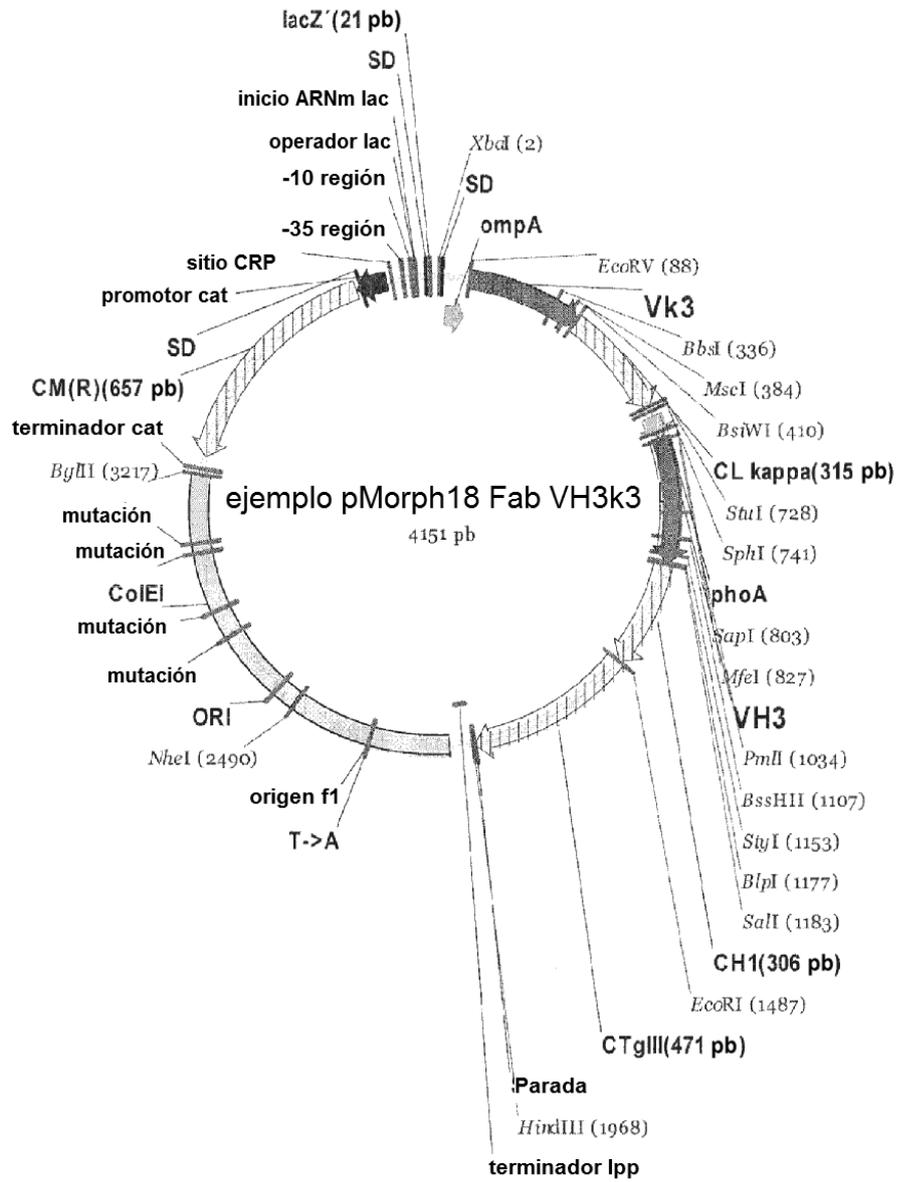


Fig. 2



```

lacZ'      SD      ompA
~         ~~~~~
XbaI
~~~~~

          M K K T A I A I A V ·
1  TCTAGATAAC GAGGGCAAAA AATGAAAAAG ACAGCTATCG CGATTGCAGT
   AGATCTATTG CTCCCGTTTT TTA CTTTTC TGTTCGATAGC GCTAACGTCA
                                   Vk3
                                   ~~~~~

          ompA
          ~~~~~

                                   EcoRV
                                   ~~~~~

· A L A G F A T V A Q A D I V L T Q ·
51 GGC ACTGGCT GGTTCGCTA CCGTAGCGCA GGCCGATATC GTGCTGACCC
    
```

Fig. 2 cont.

```

CCGTGACCGA CCAAAGCGAT GGCATCGCGT CCGGCTATAG CACGACTGGG
Vk3
-----
· S P A T L S L S P G E R A T L S
101 AGAGCCCGGC GACCCTGAGC CTGTCTCCGG GCGAACGTGC GACCCTGAGC
TCTCGGGCCG CTGGGACTCG GACAGAGGCC CGCTTGCACG CTGGGACTCG
Vk3
-----
C R A S Q S V S S S Y L A W Y Q Q
151 TGCAGAGCGA GCCAGAGCGT GAGCAGCAGC TATCTGGCGT GGTACCAGCA
ACGTCTCGCT CGGTCTCGCA CTCGTCTGTCG ATAGACCGCA CCATGGTCTT
Vk3
-----
· K P G Q A P R L L I Y G A S S R A
201 GAAACCAGGT CAAGCACCGC GTCTATTAAT TTATGGCGCG AGCAGCCGTG
CTTTGGTCCA GTTCGTGGCG CAGATAATTA AATACCGCGC TGCTCGGCAC
Vk3
-----
· T G V P A R F S G S G S G T D F
251 CAACTGGGGT CCCGGCGCGT TTTAGCGGCT CTGGATCCGG CACGGATTTT
GTTGACCCCA GGGCCGCGCA AAATCGCCGA GACCTAGGCC GTGCCTAAAA
Vk3
-----
BbsI
-----
T L T I S S L E P E D F A V Y Y C
301 ACCCTGACCA TTAGCAGCCT GGAACCTGAA GACTTTGCGG TGTATTATG
TGGGACTGGT AATCGTCGGA CCTTGGACTT CTGAAACGCC ACATAATAAC
Vk3
-----
MscI
-----
· Q Q H Y T T P P T F G Q G T K V E
351 CCAGCAGCAT TATACCACCC CGCCGACCTT TGGCCAGGGT ACGAAAGTTG
GGTCGTGTA ATATGGTGGG GCGGCTGGAA ACCGCTCCCA TGCTTTCAC
CL kappa
-----
Vk3
-----
BsiWI
-----
· I K R T V A A P S V F I F P P S
401 AAATTAACG TACGTTGGCT GCTCCGAGCG TGTTTATTTT TCCGCCGAGC
TTTAATTTGC ATGCCACCGA CGAGGCTCGC ACAAATAAAA AGGCGGCTCG
CL kappa
-----
D E Q L K S G T A S V V C L L N N
451 CATGAACAAC TGAAGAGCGG CACGCCGAGC GTGGTGTGCC TGCTGAACAA
CTACTTGTG ACTTTTCGCC GTGCCGCTCG CACCACACGG ACGACTTGT
CL kappa
-----
· F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q
501 CTTTTATCCG CGTGAAGCGA AAGTTCAGTG GAAAGTAGAC AACCGCGCTGC
GAAAATAGGC GCACTTCGCT TTCAAGTCAC CTTTCATCTG TTGCCGACG
CL kappa
-----
· S G N S Q E S V T E Q D S K D S
551 AAAGCGCAA CAGCCAGGAA AGCGTGACCG AACAGGATAG CAAAGATAGC
TTTCGCCGTT GTCGGTCCTT TCGCACTGGC TTGTCTATC GTTTCATCG
CL kappa
-----

```

Fig. 2 cont.

```

T Y S L S S T L T L S K A D Y E K
601 ACCTATTCTC TGAGCAGCAC CCTGACCCTG AGCAAAGCGG ATTATGAAAA
TGGATAAGAG ACTCGTCGTG GGA CTGGGAC TCGTTTCGCC TAATACTTTT
CL kappa
-----
H K V Y A C E V T H Q G L S S P V
651 ACATAAAGTG TATGCGTGCG AAGTGACCCA TCAAGGTCTG AGCAGCCCCG
TGTATTTTAC ATACGCACGC TTCACTGGGT AGTTCAGAC TCGTCGGGCC
CL kappa
-----
StuI SphI
-----
T K S F N R G E A
701 TGAATAATC TTTAATCGT GCGAGGCCT GATAAGCATG CGTAGGAGAA
ACTGATTAG AAAATTAGCA CCGCTCCGGA CTATTCGTAC GCATCCTCTT
phoA
-----
SapI
-----
M K Q S T I A L A L L P L L F
751 AATAAATGA AACAAAGCAC TATTGCACTG GCACTCTTAC CGTTGCTCTT
TTATTTTACT TTGTTTCGTG ATAACGTGAC CGTGAGAATG GCAACGAGAA
VH3
-----
phoA
-----
SapI MfeI
-----
T P V T K A Q V Q L V E S G G G L
801 CACCCCTGTT ACCAAAGCCG AAGTGCAATT GGTGGAAGC GCGCGCGCC
GTGGGACAA TGGTTTCGGC TTCACGTTAA CCACCTTTCG CCGCCGCGG
VH3
-----
V Q P G G S L R L S C A A S G F
851 TGGTGAACC GCGCGCAGC CTGCGTCTGA GCTGCGCGGC CTCCGGATTT
ACCACGTTGG CCCGCGTCG GACGCAGACT CGACGCGCCG GAGGCCTAAA
VH3
-----
T F S S Y A M S W V R Q A P G K G
901 ACCTTTAGCA GCTATGCGAT GAGCTGGGTG CGCCAAGCCC CTGGGAAGGG
TGGAAATCGT CGATACGCTA CTCGACCCAC GCGGTTCCGG GACCCTTCCC
VH3
-----
L E W V S A I S G S G G S T Y Y A
951 TCTCGAGTGG GTGAGCGCGA TTAGCGGTAG CCGCGGCAGC ACCTATTATG
AGAGCTCACC CACTCGCGCT AATCGCCATC GCCGCCGTCG TGGATAATAC
VH3
-----
PmlI
-----
D S V K G R F T I S R D N S K N
1001 CCGATAGCGT GAAAGGCCGT TTTACCATTT CACGTGATAA TTCGAAAAAC
GCCTATCGCA CTTTCCGGCA AAATGGTAAA GTGCACTATT AAGCTTTTTG
VH3
-----
T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y
1051 ACCCTGTATC TGCAAATGAA CAGCCTGCGT GCGGAAGATA CCGCCGTGTA
TGGGACATAG ACGTTTACTT GTCGGACGCA CGCCTTCTAT GCCGGCACAT
VH3
-----
EcoSHII

```

Fig. 2 cont.

```

-----
      · Y C A R W G G D G F Y A M D Y W G ·
1101  TTATGCGCG CGTTGGGGCG GCGATGGCTT TTATGCGATG GATTATGGG
      AATAACGCGC GCAACCCCGC CGCTACCGAA AATACGCTAC CTAATAACCC
                                  CH1
-----
                                VH3
-----
                                Sali
-----
      StyI                               BlnI
-----
      · Q G T L V T V S S A S T K G P S
1151  GCCAAGGCAC CCTGTGACG GTTAGCTCAG CGTCGACCAA AGGTCCAAGC
      CCGTTCCTG GACCCTGTC CAATCGAGTC GCAGCTGGTT TCCAGGTTGC
                                  CH1
-----
      V F P L A P S S K S T S G G T A A ·
1201  GTGTTTCCGC TGGCTCCGAG CAGCAAAAGC ACCAGCGGCG GCACGGCTGC
      CACAAAGGCG ACCGAGGCTC GTCGTTTTCG TGGTCGCCGC CGTGCCGACG
                                  CH1
-----
      · L G C L V K D Y F P E P V T V S W ·
1251  CCTGGGCTGC CTGGTTAAAG ATTATTTCCC GGAACCAGTC ACCGTGAGCT
      GGACCCGACG GACCAATTC TAATAAAGGG CCTTGGTCAG TGGCACTCGA
                                  CH1
-----
      · N S G A L T S G V H T F P A V L
1301  GGAACAGCGG GGCCTGACC AGCGCGTGC ATACCTTTC GCGGTGCTG
      CCTGTCCGC CCGCGACTGG TCGCCGACG TATGGAAAGG CCGCCACGAC
                                  CH1
-----
      Q S S G L Y S L S S V V T V P S S ·
1351  CAAAGCAGCG GCCTGTATAG CCTGAGCAGC GTTGTGACCG TGCCGAGCAG
      GTTTCGTCCG CCGACATATC GGACTCGTGC CAACACTGGC ACGGCTCGTC
                                  CH1
-----
      · S L G T Q T Y I C N V N H K P S N ·
1401  CAGCTTAGGC ACTCAGACCT ATATTTGCAA CGTGAACCAT AAACCGAGCA
      GTCGAATCCG TGAGTCTGGA TATAAACGTT GCACTTGTA TTTGGTCTGT
                                  CH1                               CTgIII
-----
                                EcoRI
-----
      · T K V D K K V E P K S E F G G G
1451  ACACCAAAGT GGATAAAAA GTGGAACCGA AAAGCGAATT CGGGGGAGGG
      TGTGGTTTCA CCTATTTTTT CACCTTGGCT TTTCGCTTAA GCCCCTCCC
                                  CTgIII
-----
      S G S G D F D Y E K M A N A N K G ·
1501  AGCGGGAGCG GTGATTTTGA TTATGAAAAG ATGGCAAACG CTAATAAGGG
      TCGCCCTCGC CACTAAAAC AATACTTTTC TACCGTTTGC GATTATTCCC
                                  CTgIII
-----
      · A M T E N A D E N A L Q S D A K G ·
1551  GGCTATGACC GAAAATGCCG ATGAAAACGC GCTACAGTCT GACGCTAAAG
      CCGATACTGG CTTTTACGGC TACTTTTGGC CGATGTCAGA CTGCGATTTT
                                  CTgIII
-----
      · K L D S V A T D Y G A A I D G F
1601  GCRAACTTGA TTCTGTGCT ACTGATTACG GTGCTGCTAT CGATGGTTTC

```

Fig. 2 cont.

```

CGTTTGA ACT AAGACAGCGA TGACTAATGC CACGACGATA GCTACCAAAG
CTgIII
-----
I G D V S G L A N G N G A T G D F
1651 ATTGGTGACG TTTCCGGCCT TGCTAATGGT AATGGTGCTA CTGGTGATTT
TAACCACTGC AAAGGCCGGA ACGATTACCA TTACCACGAT GACCACTAAA
CTgIII
-----
A G S N S Q M A Q V G D G D N S P
1701 TGCTGGCTCT AATTCCCAA TGGCTCAAGT CGGTGACGGT GATAATTCAC
ACGACCGAGA TTAAGGGTTT ACCGAGTTCA GCCACTGCCA CTATTAAGTG
CTgIII
-----
L M N N F R Q Y L P S L P Q S V
1751 CTTTAATGAA TAATTTCCGT CAATATTTAC CTTCCCTCCC TCAATCGGT
GAAATTACTT ATTAAGGCA GTTATAAATG GAAGGGAGGG AGTTAGCCAA
CTgIII
-----
E C R P F V F G A G K P Y E F S I
1801 GAATGTCGCC CTTTTGTCTT TGGCGCTGGT AAACCATATG AATTTTCTAT
CTTACAGCGG GAAAACAGAA ACCGCGACCA TTTGGTATAC TTAAAAGATA
CTgIII
-----
D C D K I N L F R G V F A F L L Y
1851 TGATTGTGAC AAAATAA ACT TATTCCGTGG TGTCTTTGCG TTTCTTTTAT
ACTAACACTG TTTTATTTGA ATAAGGCACC ACAGAAACGC AAAGAAAATA
CTgIII
-----
V A T F M Y V F S T F A N I L R
1901 ATGTTGCCAC CTTTATGTAT GTATTTTCTA CGTTTGCTAA CATACTGCGT
TACAACGGTG GAAATACATA CATAAAAGAT GCAAACGATT GTATGACGCA
CTgIII
-----
Parada terminador lpp
-----
HindIII
-----
N K E S
1951 AATAAGGAGT CTTGATAAGC TTGACCTGTG AAGTGAAAAA TGGCGCAGAT
TTATTCCTCA GAACTATTTC AACTGGACAC TTCACTTTTT ACCGCGTCTA
lpp terminator
-----
2001 TGTGCGACAT TTTTTTGTG TGCCGTTTAA TGAAATTGTA AACGTTAATA
ACACGCTGTA AAAAAACAG ACGGCAAATT ACTTTAACAT TTGCAATTAT
-----
origen fl
2051 TTTTGTAAA ATTGCGGTTA AATTTTGTG AAATCAGCTC ATTTTAAAC
AAAACAATTT TAAGCGCAAT TTAAAAACAA TTTAGTCGAG TAAAAAATTG
-----
origen fl
2101 CAATAGGCCG AAATCGGCAA AATCCCTTAT AAATCAAAAG AATAGACCGA
GTTATCCGGC TTTAGCCGTT TTAGGGAATA TTTAGTTTTT TTATCTGGCT
-----
origen fl
2151 GATAGGTTG AGTGTGTTC CAGTTTGGAA CAAGAGTCCA CTATTAAGA
CTATCCCAAC TCACAACAAG GTCAAACCTT GTTCTCAGGT GATAATTTCT
-----
origen fl
2201 ACGTGGACTC CAACGTCAAA GGGCGAAAAA CCGTCTATCA GGGCGATGGC
TGCACTGAG GTTGCAGTTT CCCGCTTTTT GGCAGATAGT CCCGCTACCG
-----

```

origen fl

Fig. 2 cont.

T->A

2251 CCACTACGAG AACCATCACC CTAATCAAGT TTTTGGGGT CGAGGTGCCG
GGTGATGCTC TTGGTAGTGG GATTAGTTCA AAAAAACCCA GCTCCACGGC

origen fl

2301 TAAAGCACTA AATCGGAACC CTAAAGGGAG CCCCCGATTT AGAGCTTGAC
ATTCGTGAT TTAGCCTTGG GATTTCCCTC GGGGGCTAAA TCTCGAACTG

origen fl

2351 GGGGAAAGCC GCGAACGTG GCGAGAAAGG AAGGGAAGAA AGCGAAAGGA
CCCCTTTCGG CCGCTTGAC CGCTCTTTC TCCCTTCTT TCGCTTTCCT

origen fl

2401 GCGGGCGCTA GGGCGCTGGC AAGTGTAGCG GTCACGCTGC GCGTAACCAC
CGCCCCGAT CCCGCGACC TTCACATCGC CAGTGGCAGC CGCATTGGTG

origen fl

NheI

2451 CACACCCGCC GCGCTTAATG CGCCGCTACA GGGCGCGTGC TAGCCATGTG
GTGTGGGCGG CGCGAATTAC GCGGCGATGT CCCGCGCAGC ATCGGTACAC

origen fl

ColEI

2501 AGCAAAAGGC CAGCAAAAGG CCAGGAACCG TAAAAAGGCC GCGTTGCTGG
TCGTTTTCCG GTCGTTTTCC GGTCTTGGC ATTTTTCCGG CGCAACGACC

ColEI

ORI

2551 CGTTTTTCCA TAGGCTCCGC CCCCCTGACG AGCATCACAA AAATCGACGC
GCAAAAAGGT ATCCGAGGCG GGGGGACTGC TCGTAGTGTT TTTAGCTGCG

ColEI

2601 TCAAGTCAGA GGTGGCGAAA CCCGACAGGA CTATAAAGAT ACCAGGCGTT
AGTTCAGTCT CCACCGCTTT GGGCTGTCCT GATATTTCTA TGGTCCGCAA

ColEI

2651 TCCCCCTGGA AGCTCCCTCG TCGCTCTCC TGTTCGACC CTGCCGCTTA
AGGGGACCT TCGAGGGACC ACGCGAGAGG ACAAGGCTGG GACGGCGAAT

ColEI

mutación

2701 CCGGATACCT GTCCGCCTTT CTCCCTTCGG GAAGCGTGGC GCTTCTCAT
GGCCTATGGA CAGGCGGAAA GAGGGAAGCC CTTGCGACCG CGAAAAGTA

ColEI

mutación

2751 AGCTCAGCT GTAGGTATCT CAGTTCGGTG TAGGTCGTTT GCTCCAAGCT
TCGAGTGCGA CATCCATAGA GTCAAGCCAC ATCCAGCAAG CGAGGTTCGA

ColEI

mutación

2801 GGGCTGTGTG CACGAACCCC CCGTTCAGTC CGACCGCTGC GCCTTATCCG
CCCGACACAC GTGCTTGGGG GGCAAGTCAG GCTGGCGACG CGGAATAGGC

ColEI

Fig. 2 cont.

```

2851  GTAACATCG TCTTGAGTCC AACCCGGTAA GACACGACTT ATCGCCACTG
      CATTGATAGC AGAACTCAGG TTGGGCCATT CTGTGCTGAA TAGCGGTGAC
      -----
                          ColeI
2901  GCAGCAGCCA CTGGTAACAG GATTAGCAGA GCGAGGTATG TAGGCGGTGC
      CGTCGTGGT GACCATTGTC CTAATCGTCT CGCTCCATAC ATCCGCCACG
      -----
                          ColeI
                                          mutación
2951  TACAGAGTTC TTGAAGTGGT GGCCTAACTA CGGCTACACT AGAAGAACAG
      ATGTCTCAAG AACTTCACCA CCGGATTGAT GCCGATGTGA TCTTCTTGTC
      -----
                          ColeI
                          mutación
3001  TATTTGGTAT CTGCGCTCTG CTGTAGCCAG TTACCTTCGG AAAAAGAGTT
      ATAAACCATA GACGCGAGAC GACATCGGTC AATGGAAGCC TTTTCTCAA
      -----
                          ColeI
3051  GGTAGCTCTT GATCCGGCAA ACAAACCACC GCTGGTAGCG GTGGTTTTTT
      CCATCGAGAA CTAGGCCGTT TGTTTGGTGG CGACCATCGC CACCAAAAAA
      -----
                          ColeI
3101  TGTTTGCAAG CAGCAGATTA CGCGCAGAAA AAAAGGATCT CAAGAAGATC
      ACAAACGTTT GTCGTCTAAT GCGCGTCTTT TTTTCTAGA GTTCTTCTAG
      -----
                          ColeI
3151  CTTTGATCTT TTCTACGGGG TCTGACGCTC AGTGGAACGA AACTCACGT
      GAAACTAGAA AAGATGCCCC AGACTGCGAG TCACCTTGCT TTTGAGTGCA
      -----
                          ColeI
                                          terminador cat
                                          -----
                          BglII
                          -----
3201  TAAGGGATTT TGGTCAGATC TAGCACCAGG CGTTTAAGGG CACCAATAAC
      ATTCCTAAA ACCAGTCTAG ATCGTGGICC GCAAATTCCC GTGGTTATTG
      -----
                          ColeI
                          terminador cat
                          -----
3251  TGCCTTAAAA AAATTACGCC CCGCCCTGCC ACTCATCGCA GTACTGTTGT
      ACGGAATTTT TTTAATGCGG GCGGGGACGG TGAGTAGCGT CATGACAACA
      -----
                                          CM(R)
3301  AATTCATTAA GCATTCTGCC GACATGGAAG CCATCACAAA CGGCATGATG
      TTAAGTAATT CGTAAGACGG CTGTACCTTC GGTAGTGTTT GCCGTACTAC
      -----
                                          CM(R)
3351  AACCTGAATC GCCAGCGGCA TCAGCACCTT GTCGCCTTGC GTATAATATT
      TTGGACTTAG CGGTCGCCGT AGTCGTGGAA CAGCGGAACG CATATTATAA
      -----
                                          CM(R)
3401  TGCCCATAGT GAAAACGGGG GCGAAGAAGT TGTCCATATT GGCTACGTTT
      ACGGGTATCA CTTTTGCCCC CGCTTCTTCA ACAGGTATAA CCGATGCAAA
      -----
                                          CM(R)
3451  AAATCAAAAC TGGTGAAACT CACCCAGGGA TTGGCTGAGA CGAAAAACAT
      TTTAGTTTTG ACCACTTTGA GTGGGTCCCT AACCGACTCT GCTTTTTGTA
      -----

```

Fig. 2 cont.

```

                                CM (R)
3501  ATTCTCAATA AACCCCTTTAG GGAAATAGGC CAGGTTTTCA CCGTAACACG
      TAAGAGTTAT TTGGGAAATC CCTTTATCCG GTCCAAAAGT GGCATTGTGC
-----
                                CM (R)
3551  CCACATCTTG CGAATATATG TGTAGAAACT GCCGGAAATC GTCGTGGTAT
      GGTGTAGAAC GCTTATATAC ACATCTTTGA CGGCCTTTAG CAGCACCATA
-----
                                CM (R)
3601  TCACTCCAGA GCGATGAAAA CGTTTCAGTT TGCTCATGGA AAACGGTGTA
      AGTGAGGTCT CGCTACTTTT GCAAAGTCAA ACGAGTACCT TTTGCCACAT
-----
                                CM (R)
3651  ACAAGGGTGA ACACTATCCC ATATCACCAG CTCACCGTCT TTCATTGCCA
      TGTTCCTACT TGTGATAGGG TATAGTGGTC GAGTGGCAGA AAGTAACGGT
-----
                                CM (R)
3701  TACGGAACTC CGGGTGAGCA TTCATCAGGC GGGCAAGAAT GTGAATAAAG
      ATGCCTTGAG GCCCACTCGT AAGTAGTCCG CCCGTTCTTA CACTTATTTT
-----
                                CM (R)
3751  GCCGGATAAA ACTTGTGCTT ATTTTTCTTT ACGGTCTTTA AAAAGGCCGT
      CGGCCTATTT TGAACACGAA TAAAAAGAAA TGCCAGAAAT TTTCCGGCA
-----
                                CM (R)
3801  AATATCCAGC TGAACGGTCT GGTATAGGT ACATTGAGCA ACTGACTGAA
      TTATAGGTCG ACTTGCCAGA CCAATATCCA TGTAACTCGT TGACTIONT
-----
                                CM (R)
3851  ATGCCTCAAA ATGTTCTTTA CGATGCCATT GGGATATATC AACGGTGGTA
      TACGGAGTTT TACAAGAAAT GCTACGGTAA CCTATATAG TTGCCACCAT
-----
                                CM (R)
3901  TATCCAGTGA TTTTTTCTC CATTTTAGCT TCCTTAGCTC CTGAAAATCT
      ATAGGTCACT AAAAAAGAG GTAAAATCGA AGGAATCGAG GACTTTTAGA
-----
                                CM (R)                                SD
                                ~~~~~
                                promotor cat
3951  CGATAACTCA AAAAATACGC CCGGTAGTGA TCTTATTTCA TTATGGTGAA
      GCTATTGAGT TTTTATGCG GGCCATCACT AGAATAAAGT AATACCACTT
-----
                                promotor cat
                                sitio CRP
                                ~~~~~
4001  AGTTGGAACC TCACCCGACG TCTAATGTGA GTTAGCTCAC TCATTAGGCA
      TCAACCTTGG AGTGGGCTGC AGATTACACT CAATCGAGTG AGTAATCCGT
-----
promotor cat                                ARNm lac
inicio
                                ~~~~~
                                operador lac
                                ~~~~~
                                -35 región                                -10 región
                                ~~~~~
4051  CCCCAGGCTT TACTTTTAT GCTTCCGGCT CGTATGTTGT GTGGAATTGT
      GGGGTCCGAA ATGTGAAATA CGAAGGCCGA GCATACAACA CACCTTAACA
      operador lac                                SD                                lacZ'
-----
4101  GAGCGGATAA CAATTCACA CAGGAAACAG CTATGACCAT GATTACGAAT

```

Fig. 2 cont.

CTCGCCTATT GTTAAAGTGT GTCCTTTGTC GATACTGGTA CTAATGCTTA
lacZ'

4151 ~
T
A

Fig. 3

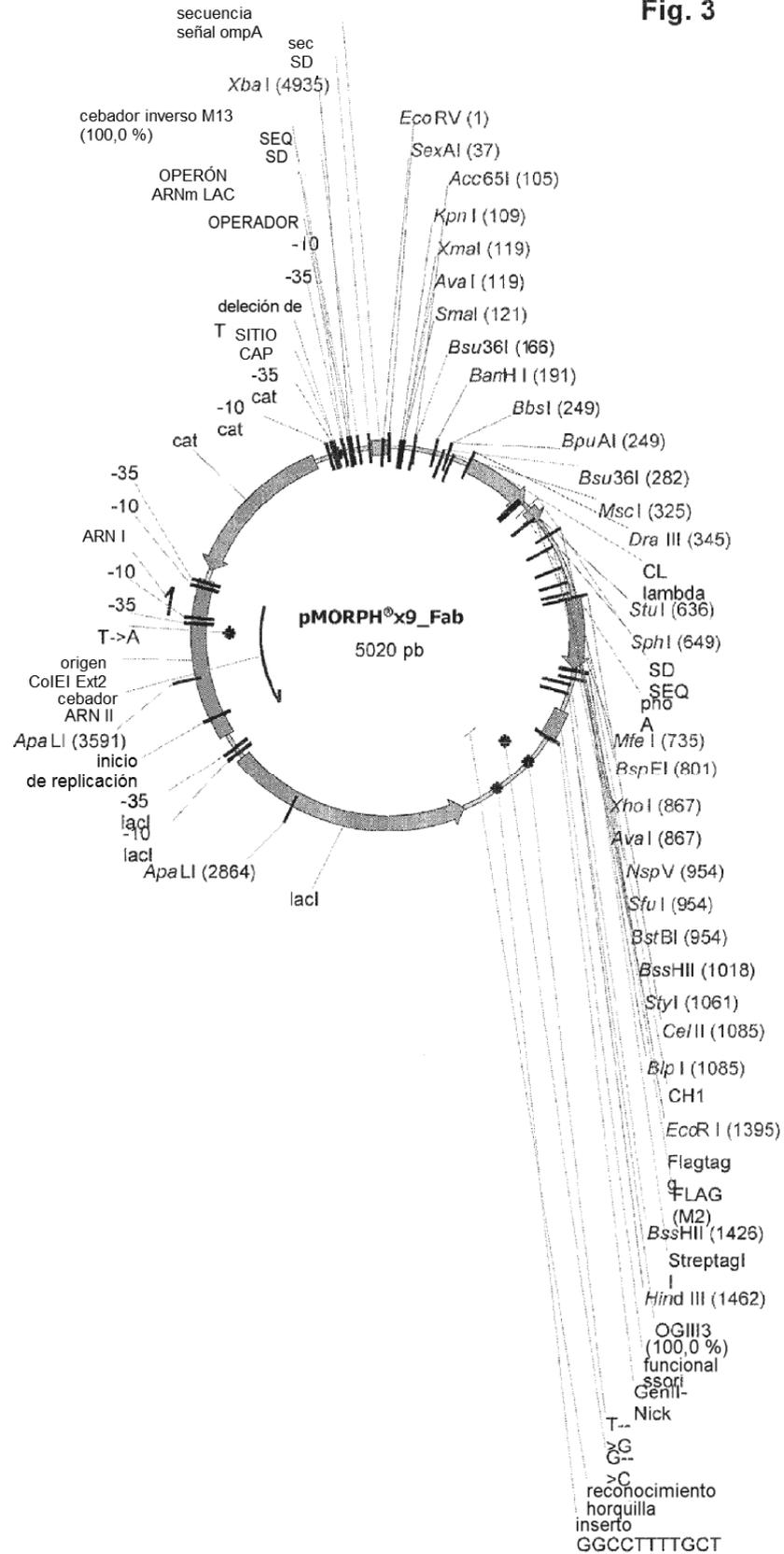


Fig. 3 cont.

	EcoRV				SexAI
	---				-----
1	ATCGTGCTGA	CCCAGCCGCC	TTCAGTGAGT	GGCGCACCAG	GTCAGCGTGT
	TAGCACGACT	GGGTCCGGCG	AAGTCACTCA	CCGCGTGGTC	CAGTCGCACA
51	GACCATCTCG	TGTAGCGGCA	GCAGCAGCAA	CATTGGCAGC	AACTATGTGA
	CTGGTAGAGC	ACATCGCCGT	CGTCGTCGTT	GTAACCGTCG	TTGATACT
		XmaI			

	KpnI	SmaI			
	-----	-----			
	Acc65I	AvaI			
	-----	-----			
101	GCTGGTACCA	GCAGTTGCC	GGGACGGCGC	CGAAACTGCT	GATTTATGAT
	CGACCATGGT	CGTCAACGGG	CCCTGCCGCG	GCTTTGACGA	CTAAATACTA
		Bsu36I			BamHI
		-----			-----
151	AACAACCAGC	GTCCCTCAGG	CGTGCCGGAT	CGTTTTAGCG	GATCCAAAAG
	TTGTTGGTCG	CAGGGAGTCC	GCACGGCCTA	GCAAAATCGC	CTAGGTTTTC
					BpuAI

					BbsI

201	CGCCACCAGC	GCGAGCCTTC	CGATTACGGG	CCTGCAAAGC	GAAGACGAAG
	CGCGTGGTCG	CGCTCGGAAC	GCTAATGCCC	GGACGTTTCG	CTTCTGCTTC
					Bsu36I

251	CGGATTATTA	TTGCCAGAGC	TATGACATGC	CTCAGGCTGT	GTTTGGCGGC
	GCCTAATAAT	AACGGTCTCG	ATACTGTACG	GAGTCCGACA	CAAACCGCCG
					MscI

301	GGCACGAAGT	TTAACCGTTC	TTGGCCAGCC	GAAAGCCGCA	CCGAGTGTGA
	CCGTGCTTCA	AATTGGCAAG	AACCGGTCCG	CTTTCGGCGT	GGCTCACACT
351	CGCTGTTTCC	GCCGAGCAGC	GAAGAATTGC	AGGCGAACAA	AGCGACCCTG
	GCGACAAAGG	CGGCTCGTCG	CTTCTTAACG	TCCGCTTGTT	TCGCTGGGAC
401	GTGTGCCTGA	TTAGCGACTT	TTATCCGGGA	GCCGTGACAG	TGGCCTGGAA
	CACACGGACT	AATCGCTGAA	AATAGGCCCT	CGGCACTGTC	ACCGGACCTT
451	GGCAGATAGC	AGCCCCGTCA	AGGCGGGAGT	GGAGACCACC	ACACCCTCCA
	CCGTCTATCG	TCGGGGCAGT	TCCGCCCTCA	CCTCTGGTGG	TGTGGGAGGT
501	AACAAAGCAA	CAACAAGTAC	GCGGCCAGCA	GCTATCTGAG	CCTGACGCCT
	TTGTTTCGTT	GTTGTTTCATG	CGCCGGTTCG	CGATAGACTC	GGACTGCGGA
551	GAGCAGTGGA	AGTCCCACAG	AAGCTACAGC	TGCCAGGTCA	CGCATGAGGG
	CTCGTCACCT	TCAGGGTGTC	TTCGATGTCG	ACGGTCCAGT	GCGTACTCCC

Fig. 3 cont.

			StuI	SphI
			~~~~~	~~~~~
601	GAGCACCGTG	GAAAAAACCG	TTGCGCCGAC	TGAGGCCTGA
	CTCGTGGCAC	CTTTTTTGGC	AACGCGGCTG	ACTCCGGACT
				TAAGCATGCG
				ATTCTGTACGC
651	TAGGAGAAAA	TAAAATGAAA	CAAAGCACTA	TTGCACTGGC
	ATCCTCTTTT	ATTTTACTTT	GTTTCGTGAT	AACGTGACCG
				ACTCTTACCG
				TGAGAATGGC
			MfeI	
			~~~~~	
701	TTGCTCTTCA	CCCCTGTTAC	CAAAGCCCAG	GTGCAATTGA
	AACGAGAAGT	GGGGACAATG	GTTTCGGGTC	CACGTTAACT
				AAGAAAAGCGG
				TTCTTTTCGCG
				BspEI
				~
751	CCCGGCCCTG	GTGAAACCGA	CCCAAACCCT	GACCCTGACC
	GGGCCGGGAC	CACTTTGGCT	GGGTTTGGGA	CTGGGACTGG
				TGTACCTTTT
				ACATGGAAAA
			BspEI	
			~~~~~	
801	CCGGATTTAG	CCTGTCCACG	TCTGGCGTTG	GCGTGGGCTG
	GGCCTAAATC	GGACAGGTGC	AGACCGCAAC	CGCACCCGAC
				CTAAGCGGTC
			XhoI	
			~~~~~	
			AvaI	
			~~~~~	
851	CCGCCTGGGA	AAGCCCTCGA	GTGGCTGGCT	CTGATTGATT
	GGCGGACCCT	TTCGGGAGCT	CACCGACCGA	GACTAACTAA
				CCCTACTACT
901	TAAGTATTAT	AGCACCAGCC	TGAAAACGCG	TCTGACCATT
	ATTCATAATA	TCGTGGTCCG	ACTTTTGGCG	AGACTGGTAA
				TCGTTTCTAT
			BstBI	
			~~~~~	
			SfuI	
			~~~~~	
			NspV	
			~~~~~	
951	CTTCGAAAAA	TCAGGTGGTG	CTGACTATGA	CCAACATGGA
	GAAGCTTTTT	AGTCCACCAC	GACTGATACT	GTTGTACCT
				GGGCCACCTA
			BssHII	
			~~~~~	
1001	ACGGCCACCT	ATTATTGCGC	GCGTTCTCCT	CGTTATCGTG
	TGCCGGTGGA	TAATAACGCG	CGCAAGAGGA	GCAATAGCAC
				CACGAAAACCT
			BlpI	
			~~~~~	
			StyI	
			~~~~~	
			CelII	
			~~~~~	
1051	TTATTGGGGC	CAAGGCACCC	TGGTGACGGT	TAGCTCAGCG
	AATAACCCCG	GTTCCGTGGG	ACCACTGCCA	ATCGAGTCGC
				AGCTGGTTTC

Fig. 3 cont.

```

1101  GTCCAAGCGT  GTTTCCGCTG  GCTCCGAGCA  GCAAAAGCAC  CAGCGGCGGC
      CAGGTTTCGA  CAAAGGCGAC  CGAGGCTCGT  CGTTTTCTGT  GTCGCCGCCG

1151  ACGGCTGCC  TGGGCTGCCT  GGTAAAGAT  TATTTCCCGG  AACCAGTCAC
      TGCCGACGGG  ACCCGACGGA  CCAATTTCTA  ATAAAGGGCC  TTGGTCAATG

1201  CGTGAGCTGG  AACAGCGGGG  CGTGACCAG  CGGCGTG CAT  ACCTTTCCGG
      GCACTCGACC  TTGTCGCCCC  GCGACTGGTC  GCCGCACGTA  TGGAAAGGCC

1251  CGGTGCTGCA  AAGCAGCGGC  CTGTATAGCC  TGAGCAGCGT  TGTGACCGTG
      GCCACGACGT  TTCGTGCGCG  GACATATCGG  ACTCGTCGCA  AACTGGCAC

1301  CCGAGCAGCA  GCTTAGGCAC  TCAGACCTAT  ATTTGCAACG  TGAACCATAA
      GGCTCGTCGT  CGAATCCGTG  AGTCTGGATA  TAAACGTTGC  ACTTGGTATT

                                           EcoRI
                                           -----
1351  ACCGAGCAAC  ACCAAAGTGG  ATAAAAAAGT  GGAACCGAAA  AGCGAATTCG
      TGGCTCGTTG  TGGTTTCACC  TATTTTTTCA  CCTTGGCTTT  TCGCTTAAGC

                                           BssHII
                                           -----
1401  ACTATAAAGA  TGACGATGAC  AAAGGCGCGC  CGTGGAGCCA  CCCGCAGTTT
      TGATATTTCT  ACTGCTACTG  TTTCCGCGCG  GCACCTCGGT  GGGCGTCAAA

                                           HindIII
                                           -----
1451  GAAAAATGAT  AAGCTTGACC  TGTGAAGTGA  AAAATGGCGC  AGATTGTGCG
      CTTTTACTA  TTCGAACTGG  ACACTTCACT  TTTTACCGCG  TCTAACACGC

      OGIII3  100,0%
      =====
1501  ACATTTTTTT  TGTCTGCCGT  TTAATTAAAG  GGGGGGGGGG  GCCGGCCTGG
      TGTAACAAAA  ACAGACGGCA  AATTAATTTT  CCCCCCCCCC  CGGCCGGACC

1551  GGGGGGGTGT  ACATGAAATT  GTAAACGTTA  ATATTTTGTT  AAAATTCGCG
      CCCCCCACA  TGTACTTTAA  CATTTGCAAT  TATAAACAA  TTTTAAGCGC

1601  TTAAATTTTT  GTTAAATCAG  CTCATTTTTT  AACCAATAGG  CCGAAATCGG
      AATTTAAAAA  CAATTTAGTC  GAGTAAAAAA  TTGGTTATCC  GGCTTTAGCC

1651  CAAAATCCCT  TATAAATCAA  AAGAATAGAC  CGAGATAGGG  TTGAGTGTTG
      GTTTTAGGGA  ATATTTAGTT  TTCTTATCTG  GCTCTATCCC  AACTCACAAC

1701  TTCCAGTTTG  GAACAAGAGT  CCACTATTAA  AGAACGTGGA  CTCCAACGTC
      AAGGTCAAAC  CTTGTTCTCA  GGTGATAATT  TCTTGCACCT  GAGGTTGCAG

1751  AAAGGGCGAA  AAACCGTCTA  TCAGGGCGAT  GGCCCACTAC  GAGAACCATC
      TTTCCCGCTT  TTTGGCAGAT  AGTCCCCTA  CCGGGTGATG  CTCTTGGTAG

1801  ACCCTAATCA  AGTTTTTTTG  GGTGAGGTG  CCGTAAAGCA  CTAAATCGGA
      TGGGATTAGT  TCAAAAAACC  CCAGCTCCAC  GGCATTTCTG  GATTTAGCCT
    
```

Fig. 3 cont.

1851	ACCCTAAAGG TGGGATTTCC	GAGCCCCCGA CTCGGGGGCT	TTTAGAGCTT AAATCTCGAA	GACGGGGAAA CTGCCCTTT	GCCGGCGAAC CGGCCGCTTG
1901	GTGGCGAGAA CACCGCTCTT	AGGAAGGGAA TCCTTCCCTT	GAAAGCGAAA CTTTGCTTTT	GGAGCGGGCG CCTCGCCCGC	CTAGGGCGCT GATCCCGCGA
1951	GGCAAGTGTA CCGTTACAT	GCGGTCACGC CGCCAGTGCG	TGCGCGTAAC ACGCGCATTG	CACCACACCC GTGGTGTGGG	GCCGCGCTTA CGGCGCGAAT
2001	ATGCGCCGCT TACGCGGCGA	ACAGGGCGCG TGTCCCGCGC	TGCTAGACTA ACGATCTGAT	GTGTTTAAAC CACAAATTTG	CGGACCGGGG GCCTGGCCCC
2051	GGGGGCTTAA CCCCGAATT	GTGGGCTGCA CACCCGACGT	AAACAAAACG TTTGTTTTGC	GCCTCCTGTC CGGAGGACAG	AGGAAGCCGC TCCTTCGGCG
2101	TTTTATCGGG AAAATAGCCC	TAGCCTCACT ATCGGAGTGA	GCCCGCTTTC CGGGCGAAAG	CAGTCGGGAA GTCAGCCCTT	ACCTGTGCTG TGGACAGCAC
2151	CCAGCTGCAT GGTCGACGTA	CAGTGAATCG GTCACCTAGC	GCCAACGCGC CGGTTGCGCG	GGGGAGAGGC CCCCTCTCCG	GGTTTGCGTA CCAAACGCAT
2201	TTGGGAGCCA AACCTCGGT	GGGTGGTTTT CCCACCAAAA	TCTTTTCACC AGAAAAGTGG	AGTGAGACGG TCACTCTGCC	GCAACAGCTG CGTTGTGAC
2251	ATTGCCCTTC TAACGGGAAG	ACCGCCTGGC TGGCGGACCG	CCTGAGAGAG GGACTCTCTC	TTGCAGCAAG AACGTCGTTC	CGGTCCACGC GCCAGGTGCG
2301	TGGTTTGCCC ACCAAACGGG	CAGCAGGCGA GTCGTCCGCT	AAATCCTGTT TTTAGGACAA	TGATGGTGGT ACTACCACCA	CAGCGGCGGG GTCGCCGCC
2351	ATATAACATG TATATTGTAC	AGCTGTCCTC TCGACAGGAG	GGTATCGTCG CCATAGCAGC	TATCCCCTA ATAGGGTGAT	CCGAGATGTC GGCTCTACAG
2401	CGCACCAACG GCGTGGTTGC	CGCAGCCCGG GCGTCGGGCC	ACTCGGTAAT TGAGCCATTA	GGCACGCATT CCGTGCGTAA	GCGCCCAGCG CGCGGGTCCG
2451	CCATCTGATC GGTAGACTAG	GTTGGCAACC CAACCGTTGG	AGCATCGCAG TCGTAGCGTC	TGGGAACGAT ACCCTTGCTA	GCCCTCATTC CGGGAGTAAG
2501	AGCATTGCA TCGTAAACGT	TGGTTTGTG ACCAAACAAC	AAAACCGGAC TTTTGGCCTG	ATGGCACTCC TACCGTGAGG	AGTCGCCTTC TCAGCGGAAG
2551	CCGTTCCGCT GGCAAGGCGA	ATCGGCTGAA TAGCCGACTT	TTTGATTGCG AAACTAACGC	AGTGAGATAT TCACTCTATA	TTATGCCAGC AATACGGTCG
2601	CAGCCAGACG GTCGGTCTGC	CAGACCGGCC GTCTGCGCGG	GAGACAGAAC CTCTGTCTTG	TTAATGGGCC AATTACCCCG	AGCTAACAGC TCGATTGTCC
2651	GCGATTTGCT CGCTAAACGA	GGTGGCCCAA CCACCGGGTT	TGCGACCAGA ACGCTGGTCT	TGCTCCACGC ACGAGGTGCC	CCAGTCGCGT GGTCAGCGCA
2701	ACCGTCCTCA TGGCAGGAGT	TGGGAGAAAA ACCCTCTTTT	TAATACTGTT ATTATGACAA	GATGGGTGTC CTACCCACAG	TGGTCAGAGA ACCAGTCTCT

Fig. 3 cont.

2751	CATCAAGAAA GTAGTTCTTT	TAACGCCGGA ATTGCGGCCT	ACATTAGTGC TGTAATCACG	AGGCAGCTTC TCCGTCGAAG	CACAGCAATA GTGTGCTTAT
2801	GCATCCTGGT CGTAGGACCA	CATCCAGCGG GTAGGTCGCC	ATAGTTAATA TATCAATTAT	ATCAGCCCAC TAGTCGGGTG	TGACACGTTG ACTGTGCAAC
		ApaLI -----			
2851	CGCGAGAAGA GCGCTCTTCT	TTGTGCACCG AACACGTGGC	CCGCTTTACA GGCGAAATGT	GGCTTCGACG CCGAAGCTGC	CCGCTTCGTT GGCGAAGCAA
2901	CTACCATCGA GATGGTAGCT	CACGACCACG GTGCTGGTGC	CTGGCACCCA GACCGTGGGT	GTTGATCGGC CAACTAGCCG	GCGAGATTTA CGCTCTAAAT
2951	ATCGCCGCGA TAGCGGCGCT	CAATTTGCGA GTTAAACGCT	CGGCGCGTGC GCCGCGCACG	AGGGCCAGAC TCCCAGTCTG	TGGAGGTGGC ACCTCCACCG
3001	AACGCCAATC TTGCGGTTAG	AGCAACGACT TCGTTGCTGA	GTTTGCCCGC CAAACGGGCG	CAGTTGTTGT GTCAACAACA	GCCACGCGGT CGGTGCGCCA
3051	TAGGAATGTA ATCCTTACAT	ATTCAGCTCC TAAGTCGAGG	GCCATCGCCG CGGTAGCGGC	CTTCCACTTT GAAGGTGAAA	TTCCCGCGTT AAGGGCGCAA
3101	TTCGCAGAAA AAGCGTCTTT	CGTGGCTGGC GCACCGACCG	CTGGTTCACC GACCAAGTGG	ACGCGGGAAA TGCGCCCTTT	CGGTCTGATA GCCAGACTAT
3151	AGAGACACCG TCTCTGTGGC	GCATACTCTG CGTATGAGAC	CGACATCGTA GCTGTAGCAT	TAACGTTACT ATTGCAATGA	GGTTTCACAT CCAAAGTGTA
3201	TCACCACCCT AGTGGTGGGA	GAATTGACTC CTTAACTGAG	TCTTCCGGGC AGAAGGCCCG	GCTATCATGC CGATAGTACG	CATACCGCGA GTATGGCGCT
3251	AAGGTTTTGC TTCCAAAACG	GCCATTCGAT CGGTAAGCTA	GCTAGCCATG CGATCGGTAC	TGAGCAAAAG ACTCGTTTTT	GCCAGCAAAA CGGTGCTTTT
3301	GGCCAGGAAC CCGGTCCTTG	CGTAAAAAGG GCATTTTTCC	CCGCGTTGCT GGCGCAACGA	GGCGTTTTTC CCGCAAAAAG	CATAGGCTCC GTATCCGAGG
3351	GCCCCCCTGA CGGGGGGACT	CGAGCATCAC GCTCGTAGTG	AAAAATCGAC TTTTTAGCTG	GCTCAAGTCA CGAGTTCAGT	GAGGTGGCGA CTCCACCGCT
3401	AACCCGACAG TTGGGCTGTC	GACTATAAAG CTGATATTTT	ATACCAGGCG TATGGTCCGC	TTTCCCCTG AAAGGGGGAC	GAAGCTCCCT CTTCGAGGGA
3451	CGTGCGCTCT GCACGCGAGA	CCTGTTCCGA GGACAAGGCT	CCCTGCCGCT GGGACGGCGA	TACCGGATAC ATGGCCTATG	CTGTCCGCCT GACAGGCGGA
3501	TTCTCCCTTC AAGAGGGGAAG	GGGAAGCGTG CCCTTCGCAC	GCGCTTTCTC CGCGAAAGAG	ATAGCTCACG TATCGAGTGC	CTGTAGGTAT GACATCCATA
				ApaLI -----	
3551	CTCAGTTCGG GAGTCAAGCC	TGTAGGTCGT ACATCCAGCA	TCGCTCCAAG AGCGAGGTTT	CTGGGCTGTG GACCCGACAC	TGCACGAACC ACGTGCTTGG

Fig. 3 cont.

3601 CCCCCTTCAG CCCGACCGCT GCGCCTTATC CGGTAACTAT CGTCTTGAGT
GGGGCAAGTC GGGCTGGCGA CGCGGAATAG GCCATTGATA GCAGAACTCA

3651 CCAACCCGGT AAGACACGAC TTATCGCCAC TGGCAGCAGC CACTGGTAAC
GGTTGGGCCA TTCTGTGCTG AATAGCGGTG ACCGTCGTCTG GTGACCATTG

3701 AGGATTAGCA GAGCGAGGTA TGTAGGCGGT GCTACAGAGT TCTTGAAGTG
TCCTAATCGT CTCGCTCCAT ACATCCGCCA CGATGTCTCA AGAACTTCAC

3751 GTGGCCTAAC TACGGCTACA CTAGAAGAAC AGTATTTGGT ATCTGCGCTC
CACCGGATTG ATGCCGATGT GATCTTCTTG TCATAAACCA TAGACGCGAG

3801 TGCTGTAGCC AGTTACCTTC GGAAAAAGAG TTGGTAGCTC TTGATCCGGC
ACGACATCGG TCAATGGAAG CCTTTTTCTC AACCATCGAG AACTAGGCCG

3851 AAACAAACCA CCGCTGGTAG CGGTGGTTTT TTTGTTTGCA AGCAGCAGAT
TTTGT'TTGGT GCGGACCATC GCCACCAAAA AAACAAACGT TCGTCGTCTA

3901 TACGCGCAGA AAAAAAGGAT CTCAAGAAGA TCCTTTGATC TTTTCTACGG
ATGCGCGTCT TTTTTTCCTA GAGTTCTTCT AGGAAACTAG AAAAGATGCC

3951 GGTCTGACGC TCAGTGGAAC GAAAACTCAC GTTAAGGGAT TTTGGTCAGA
CCAGACTGCG AGTCACCTTG CTTTTGAGTG CAATTCCTTA AAACCAGTCT

4001 TCTAGCACCA GCGGTTTAAG GGCACCAATA ACTGCCTTAA AAAAATTACG
AGATCGTGGT CCGCAAATTC CCGTGGTTAT TGACGGAATT TTTTAAATGC

4051 CCCCGCCCTG CCACTCATCG CAGTACTGTT GTAATTCATT AAGCATTCTG
GGGGCGGGAC GGTGAGTAGC GTCATGACAA CATTAAAGTAA TTCGTAAGAC

4101 CCGACATGGA AGCCATCACA AACGGCATGA TGAACCTGAA TCGCCAGCGG
GGCTGTACCT TCGGTAGTGT TTGCCGTACT ACTTGGACTT AGCGGTGCGC

4151 CATCAGCACC TTGTGCGCTT GCGTATAATA TTTGCCATA GTGAAAACGG
GTAGTCGTGG AACAGCGGAA CGCATATTAT AAACGGGTAT CACTTTTGCC

4201 GGGCGAAGAA GTTGTCCATA TTGGCTACGT TTAAATCAAA ACTGGTGAAA
CCCGCTTCTT CAACAGGTAT AACCGATGCA AATTTAGTTT TGACCACTTT

4251 CTCACCCAGG GATTGGCTGA GACGAAAAAC ATATTCTCAA TAAACCCTTT
GAGTGGGTCC CTAACCGACT CTGCTTTTTG TATAAGAGTT ATTTGGGAAA

4301 AGGGAAATAG GCCAGGTTTT CACCGTAACA CGCCACATCT TGCGAATATA
TCCCTTTATC CGGTCCAAA GTGGCATTGT GCGGTGTAGA ACGCTTATAT

4351 TGTGTAGAAA CTGCCGGAAA TCGTCGTGGT ATTCACTCCA GAGCGATGAA
ACACATCTTT GACGGCCTTT AGCAGCACCA TAAGTGAGGT CTCGCTACTT

4401 AACGTTTCAG TTTGCTCATG GAAAACGGTG TAACAAGGGT GAACACTATC
TTGCAAAGTC AAACGAGTAC CTTTTGCCAC ATTGTTCCCA CTTGTGATAG

4451 CCATATCACC AGCTCACCGT CTTTCATTGC CATACGGAAC TCCGGGTGAG
GGTATAGTGG TCGAGTGGCA GAAAGTAACG GTATGCCTTG AGGCCACTC

Fig. 3 cont.

4501	CATTCATCAG	GCGGGCAAGA	ATGTGAATAA	AGGCCGGATA	AAACTTGTGC
	GTAAGTAGTC	CGCCCGTTCT	TACTACTTATT	TCCGGCCTAT	TTTGAACACG
4551	TTATTTTTCT	TTACGGTCTT	TAAAAAGGCC	GTAATATCCA	GCTGAACGGT
	AATAAAAAGA	AATGCCAGAA	ATTTTTCCGG	CATTATAGGT	CGACTTGCCA
4601	CTGGTTATAG	GTACATTGAG	CAACTGACTG	AAATGCCTCA	AAATGTTCTT
	GACCAATATC	CATGTAATC	GTTGACTGAC	TTTACGGAGT	TTTACAAGAA
4651	TACGATGCCA	TTGGGATATA	TCAACGGTGG	TATATCCAGT	GATTTTTTTC
	ATGCTACGGT	AACCCTATAT	AGTTGCCACC	ATATAGGTCA	CTAAAAAAG
4701	TCCATTTTAG	CTTCCTTAGC	TCCTGAAAAT	CTCGATAACT	CAAAAAATAC
	AGGTAAAATC	GAAGGAATCG	AGGACTTTTA	GAGCTATTGA	GTTTTTTATG
4751	GCCCGGTAGT	GATCTTATTT	CATTATGGTG	AAAGTTGGAA	CCTCACCCGA
	CGGGCCATCA	CTAGAATAAA	GTAATACCAC	TTTCAACCTT	GGAGTGGGCT
4801	CGTCTAATGT	GAGTTAGCTC	ACTCATTAGG	CACCCCAGGC	TTTACTTTT
	GCAGATTACA	CTCAATCGAG	TGAGTAATCC	GTGGGGTCCG	AAATGTGAAA
4851	ATGCTTCCGG	CTCGTATGTT	GTGTGGAATT	GTGAGCGGAT	AACAATTTCA
	TACGAAGGCC	GAGCATACAA	CACACCTTAA	CACTCGCCTA	TTGTTAAAGT
	M13 cebador inverso 100,0 %			XbaI	
	=====			~~~~~	
4901	CACAGGAAAC	AGCTATGACC	ATGATTACGA	ATTTCTAGAT	AACGAGGGCA
	GTGTCCTTTG	TCGATACTGG	TACTAATGCT	TAAAGATCTA	TTGCTCCCCT
4951	AAAAATGAAA	AAGACAGCTA	TCGCGATTGC	AGTGGCACTG	GCTGGTTTCG
	TTTTTACTTT	TTCTGTCGAT	AGCGCTAACG	TCACCGTGAC	CGACCAAAGC
		EcoRV			
		~~~			
5001	CTACCGTAGC	GCAGGCCGAT			
	GATGGCATCG	CGTCCGGCTA			

Secuencia de MS-Roche n.º 3, n.º 7 y n.º 8

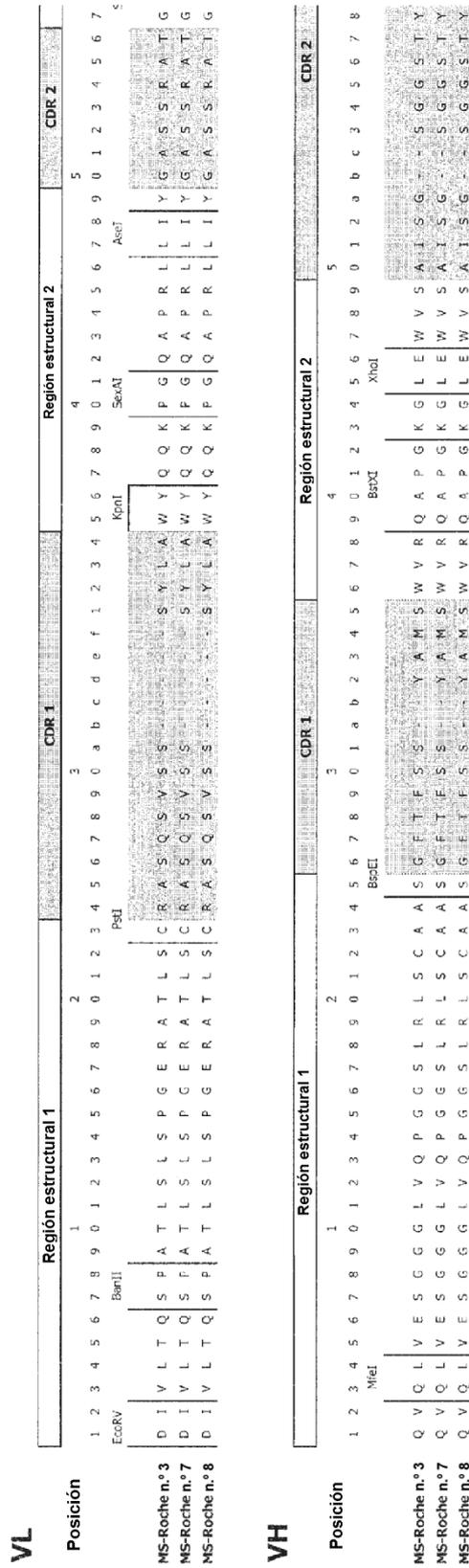


Fig. 4a

Fig. 4a cont.

Región estructural 3															CDR 3										Región estructural 4									
Región estructural 3															CDR 3										Región estructural 4									
6															9										10									
7															9										10									
8															9										10									
9															9										10									
10															9										10									
11															9										10									
12															9										10									
13															9										10									
14															9										10									
15															9										10									
16															9										10									
17															9										10									
18															9										10									
19															9										10									
20															9										10									
21															9										10									
22															9										10									
23															9										10									
24															9										10									
25															9										10									
26															9										10									
27															9										10									
28															9										10									
29															9										10									
30															9										10									
31															9										10									
32															9										10									
33															9										10									
34															9										10									
35															9										10									
36															9										10									
37															9										10									
38															9										10									
39															9										10									
40															9										10									
41															9										10									
42															9										10									
43															9										10									
44															9										10									
45															9										10									
46															9										10									
47															9										10									
48															9										10									
49															9										10									
50															9										10									
51															9										10									
52															9										10									
53															9										10									
54															9										10									
55															9										10									
56															9										10									
57															9										10									
58															9										10									
59															9										10									
60															9										10									
61															9										10									
62															9										10									
63															9										10									
64															9										10									
65															9										10									
66															9										10									
67															9										10									
68															9										10									
69															9										10									
70															9										10									
71															9										10									
72															9										10									
73															9										10									
74															9										10									
75															9										10									
76															9										10									
77															9										10									
78															9										10									
79															9										10									
80															9										10									
81															9										10									
82															9										10									
83															9										10									
84															9										10									
85															9										10									
86															9										10									
87															9										10									
88															9										10									
89															9										10									
90															9										10									
91															9										10									
92															9										10									
93															9										10									
94															9										10									
95															9										10									
96															9										10									
97															9										10									
98															9										10									
99															9										10									
100															9										10									
101															9										10									
102															9										10									
103															9										10									
104															9										10									
105															9										10									
106															9										10									
107															9										10									
108															9										10									
109															9										10									
110															9										10									
111															9										10									
112															9										10									
113															9										10									
114															9										10									
115															9										10									
116															9										10									
117															9										10									
118															9										10									
119															9										10									
120															9										10									
121															9										10									
122															9										10									
123															9										10									
124															9										10									
125															9										10									
126															9										10									
127															9										10									
128															9										10									
129															9										10									
130															9										10									
131															9										10									
132															9										10									
133															9										10									
134															9										10									
135															9										10									
136															9										10									
137															9										10									
138															9										10									
139															9										10									
140															9										10									
141															9										10									
142															9										10									
143															9										10									
144															9										10									
145															9										10									
146															9										10									
147															9										10									
148															9										10									
149															9										10									
150															9										10									
151															9										10									
152															9										10									
153															9										10									
154															9										10									
155															9										10									
156															9										10									
157															9										10									
158															9										10									
159															9										10									
160															9										10									
161															9										10									
162															9										10									
163															9										10									
164															9										10									
165															9										10									
166															9										10									
167															9										10									
168															9										10									
169															9										10									
170															9										10									
171															9										10									
172															9										10									
173															9										10									
174															9										10									
175															9										10									
176															9										10									
177															9										10									
178															9										10									
179															9										10									
180															9										10									
181															9										10									
182															9										10									
183															9										10									
184															9										10									
185															9										10									
186															9										10									
187															9										10									
188															9										10									
189															9										10									
190															9										10									
191															9										10									
192															9										10									
193															9										10									
194															9										10									
195															9										10									
196															9										10									
197															9										10									
198															9										10									
199															9										10									
200															9										10									
201															9										10									
202															9										10									
203															9										10									
204															9										10									
205															9										10									
206															9										10									
207															9										10									
208															9										10									
209															9										10									
210															9										10									
211															9										10									
212															9										10									
213															9										10									
214															9										10									
215															9										10									
216															9										10									
217															9										10									
218															9										10									
219															9										10									
220															9										10									
221															9										10									
222															9										10									
223															9										10									
224															9										10									
225															9										10									
226															9										10									
227															9										10									
228															9										10									
229															9										10									
230															9										10									
231															9										10									
232															9										10									
233															9										10									
234															9										10									
235															9										10									
236															9										10									
237															9										10									
238															9										10									
239															9										10									
240															9										10									
241															9										10									
242															9										10									
243															9										10									
244															9										10									
245															9										10									
246															9										10									
247															9										10									
248															9										10									
249															9										10									
250															9										10									
251															9										10									
252															9										10									
253															9										10									
254															9										10									
255															9										10									
256															9										10									
257															9										10									
258															9										10									
259															9										10									
260															9										10									
261															9										10									
262															9										10									
263															9										10									
264															9										10									
265															9										10									
266															9										10									
267															9										10									
268															9										10									
269															9										10									
270															9										10									
271															9										10									
272															9										10									
273															9										10									
274															9										10									
275															9										10									
276															9										10									
277															9										10									
278															9										10									
279															9										10									
280															9										10									
281															9										10									
282															9										10									
283															9										10									
284															9										10									
285															9										10									
286															9										10									
287															9										10									
288															9										10									
289															9										10									
290															9</																			



Fig. 4b cont.

Región estructural 2										CDR 2										Región estructural 3																										
7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	8				
SspAI										AseI										BamHI										BstEII																
CAG	CAG	AA	AA	CCA	GTT	CAA	GCA	CCG	CGT	CAT	TTA	ATT	TAT	GGC	GCG	AGC	AGC	CGT	GCA	ACT	GCG	GTC	CCG	GCG	CGT	TTT	AGC	GGC	TCT	GGG	TCC	GGC	AGC	GAT	TTT	ACC	CTG	ACC	ATT	AGC	AGC	CTG	GAA	CCT	GAA	GAC
CAG	CAG	AA	AA	CCA	GGT	CAA	GCA	CCG	CGT	CAT	TTA	ATT	TAT	GGC	GCG	AGC	AGC	CGT	GCA	ACT	GCG	GTC	CCG	GCG	CGT	TTT	AGC	GGC	TCT	GGG	TCC	GGC	AGC	GAT	TTT	ACC	CTG	ACC	ATT	AGC	AGC	CTG	GAA	CCT	GAA	GAC
CAG	CAG	AA	AA	CCA	GGT	CAA	GCA	CCG	CGT	CAT	TTA	ATT	TAT	GGC	GCG	AGC	AGC	CGT	GCA	ACT	GCG	GTC	CCG	GCG	CGT	TTT	AGC	GGC	TCT	GGG	TCC	GGC	AGC	GAT	TTT	ACC	CTG	ACC	ATT	AGC	AGC	CTG	GAA	CCT	GAA	GAC
XhoI										NspV										BstEIII										NspV																
1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	a	b	c	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	a	
CCT	GAG	AAG	GGT	CTC	GAG	TGG	GTG	AGC	GCG	ATT	AGC	GGT	AGC	GGC	GGC	AGC	AGC	ACC	TAT	TAT	GCG	GAT	AGC	GTC	AAA	GGC	CGT	TTT	ACC	ATT	TCA	CGT	GAT	AAT	TCG	AAA	AMC	ACC	CTG	TAT	CTG	CAA	ATG	AAC		
CCT	GAG	AAG	GGT	CTC	GAG	TGG	GTG	AGC	GCG	ATT	AGC	GGT	AGC	GGC	GGC	AGC	AGC	ACC	TAT	TAT	GCG	GAT	AGC	GTC	AAA	GGC	CGT	TTT	ACC	ATT	TCA	CGT	GAT	AAT	TCG	AAA	AMC	ACC	CTG	TAT	CTG	CAA	ATG	AAC		
CCT	GAG	AAG	GGT	CTC	GAG	TGG	GTG	AGC	GCG	ATT	AGC	GGT	AGC	GGC	GGC	AGC	AGC	ACC	TAT	TAT	GCG	GAT	AGC	GTC	AAA	GGC	CGT	TTT	ACC	ATT	TCA	CGT	GAT	AAT	TCG	AAA	AMC	ACC	CTG	TAT	CTG	CAA	ATG	AAC		



Fig. 5

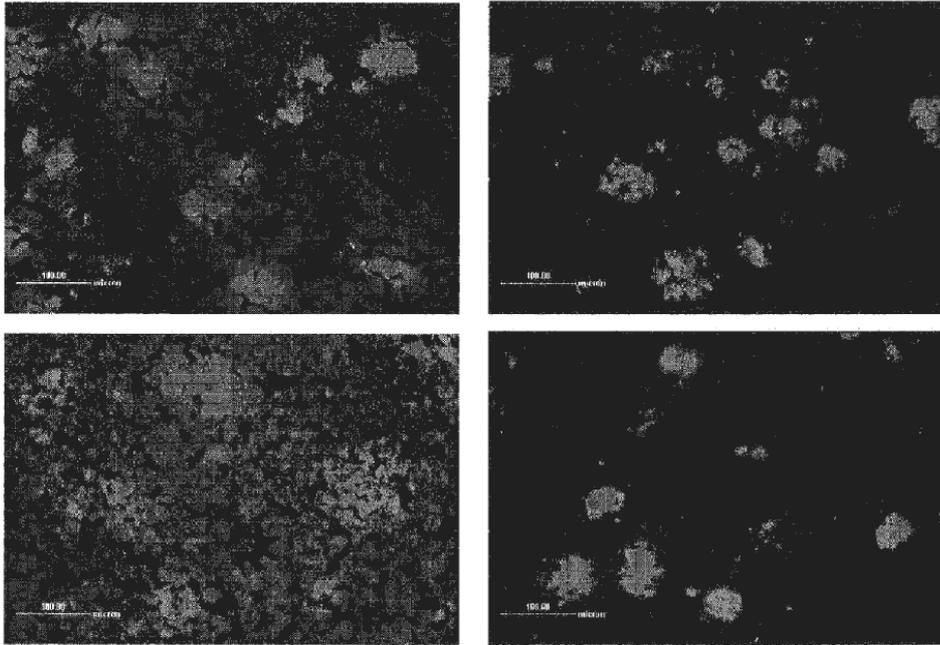


Fig. 6

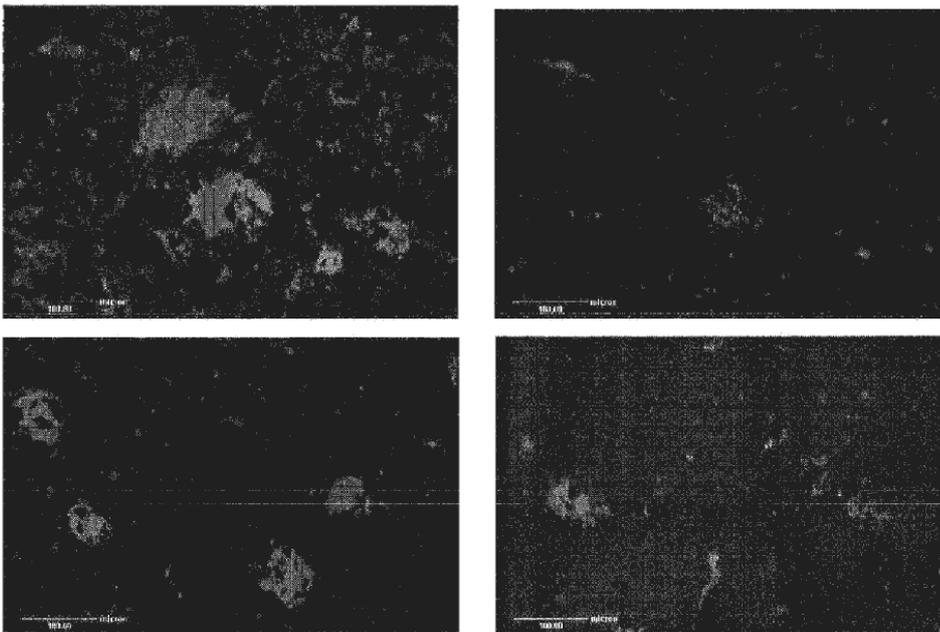


Fig. 7

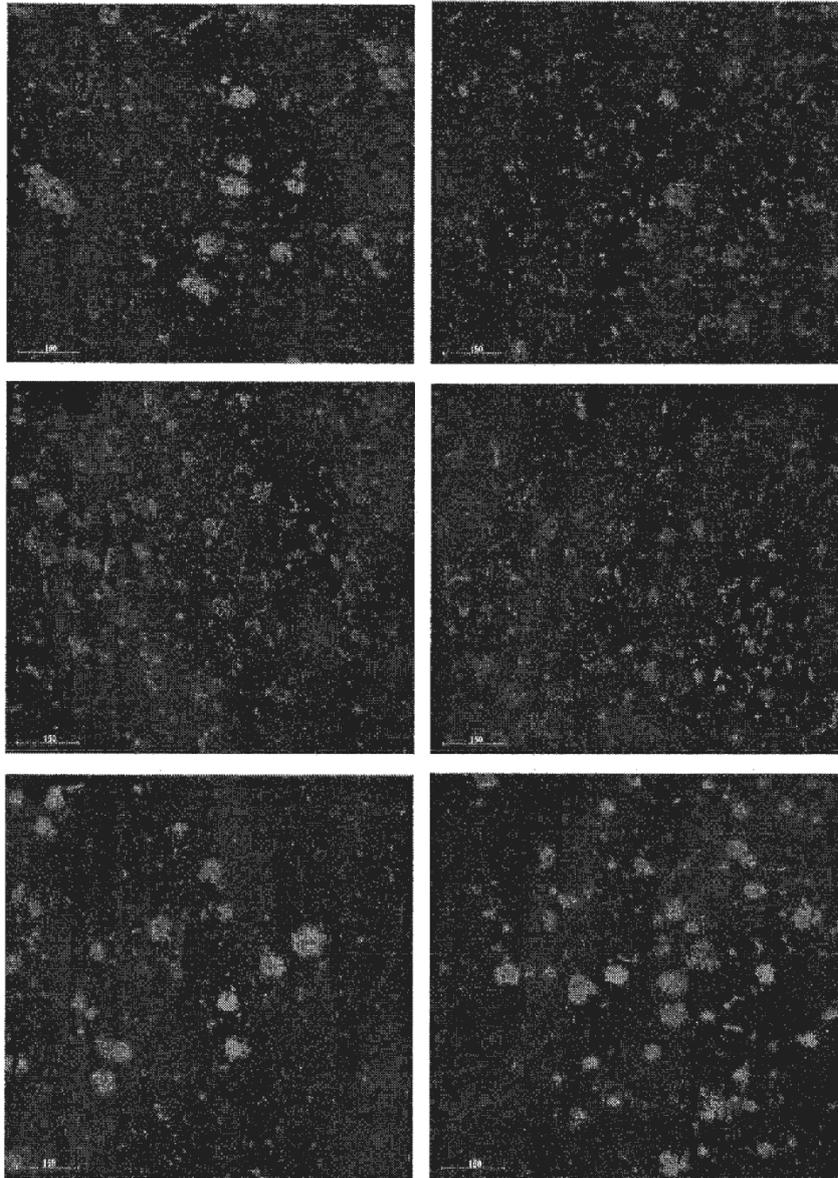


Fig. 8

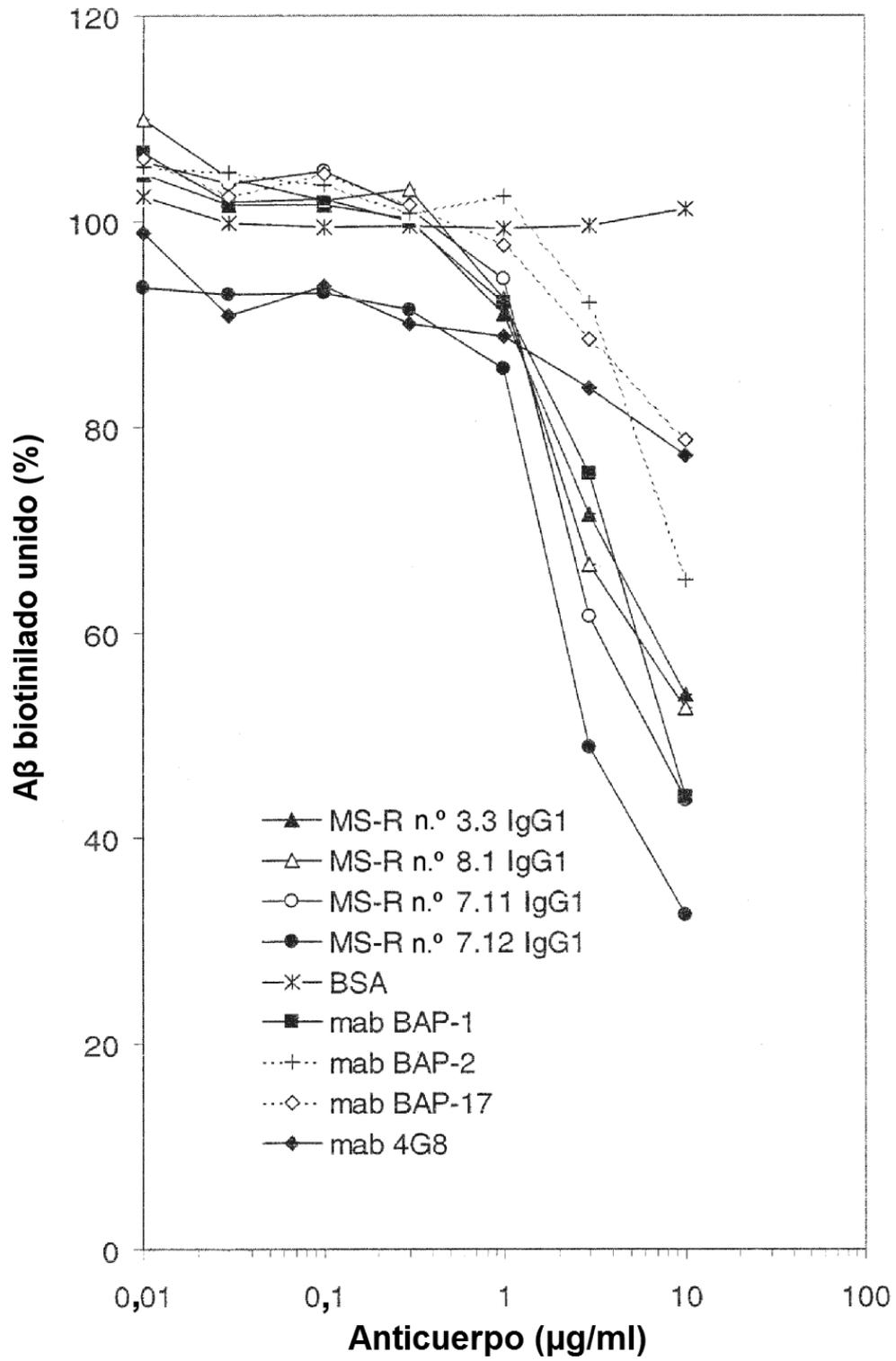


Fig. 9A

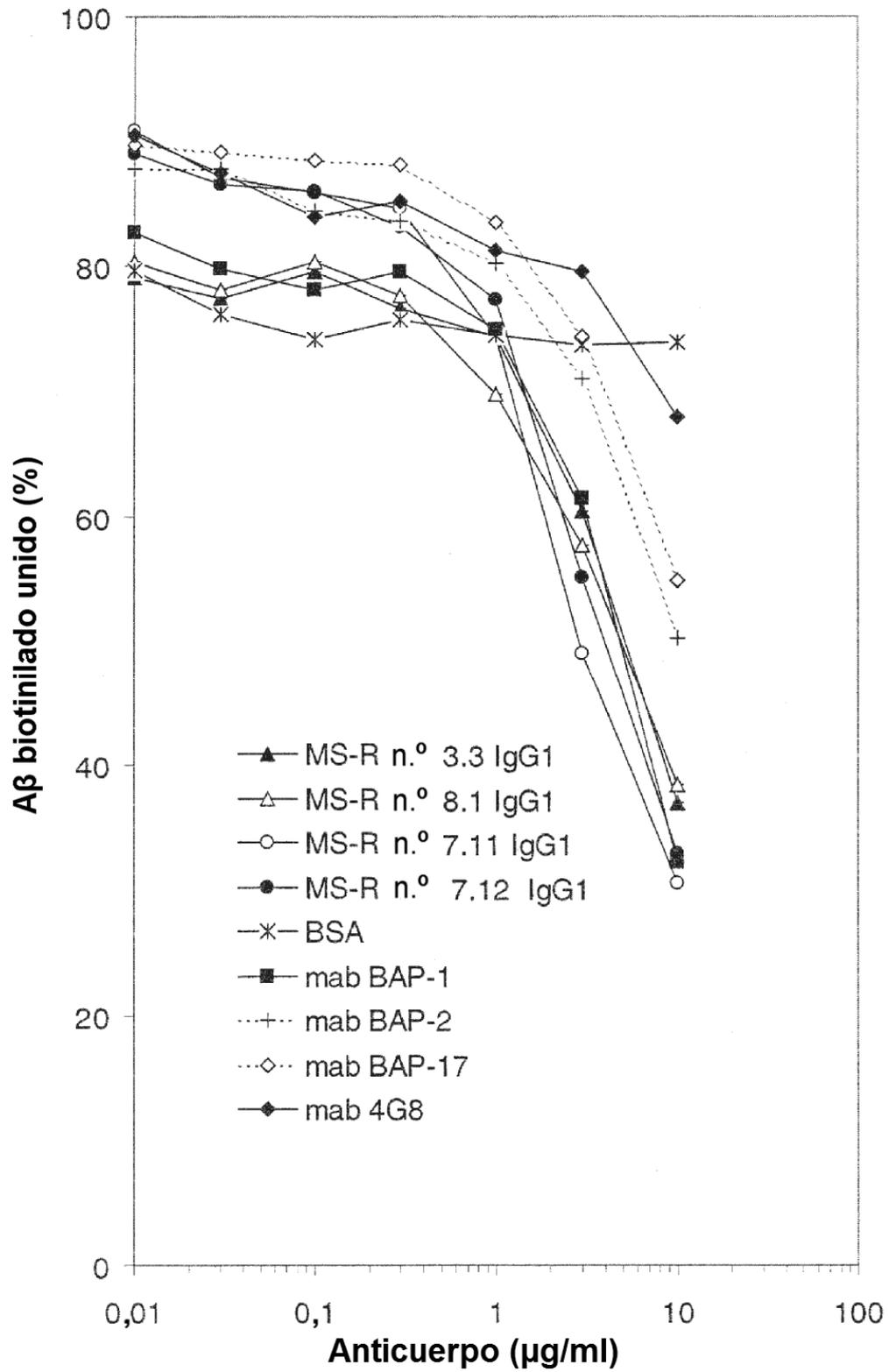


Fig. 9B

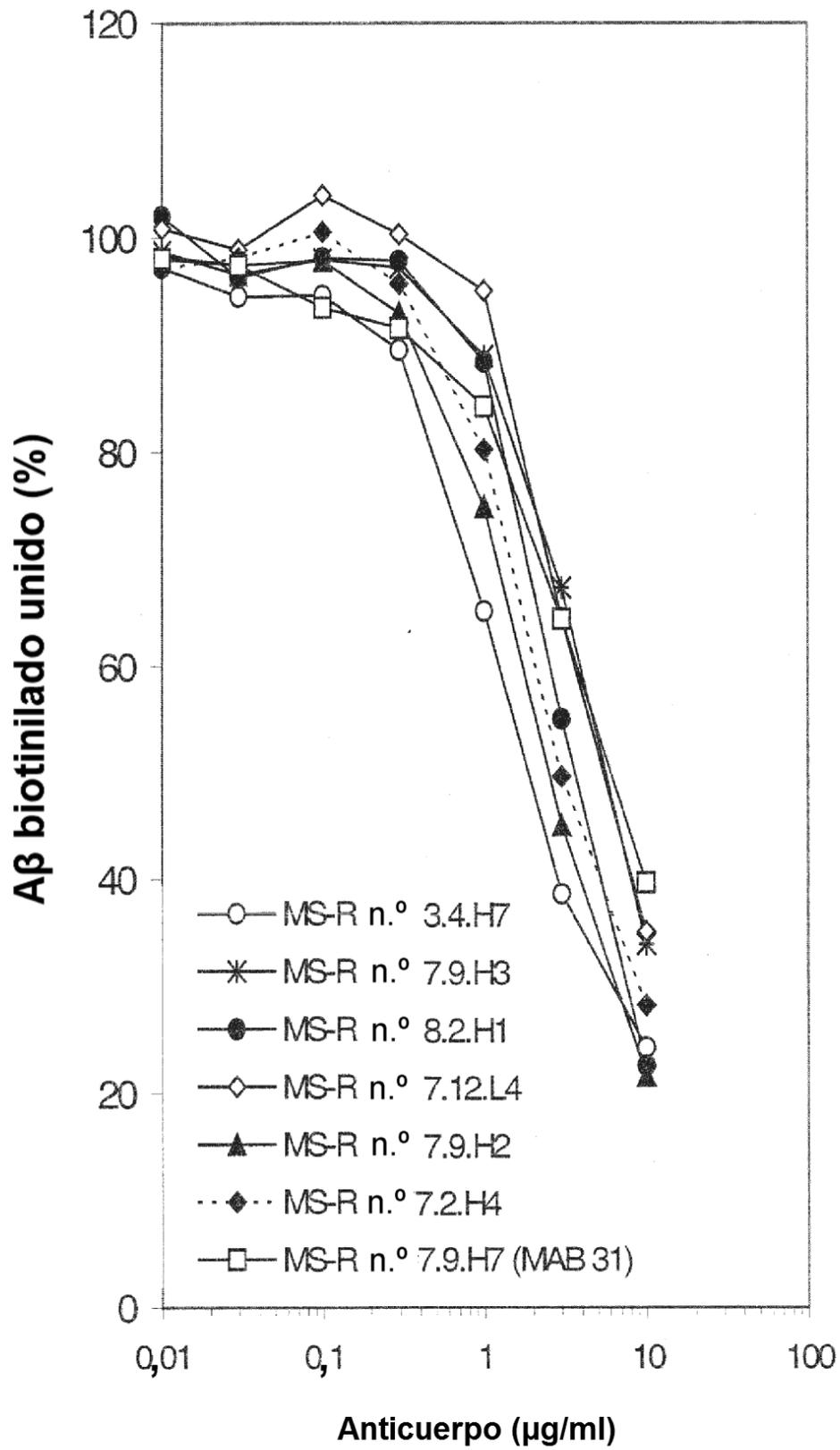


Fig. 9C

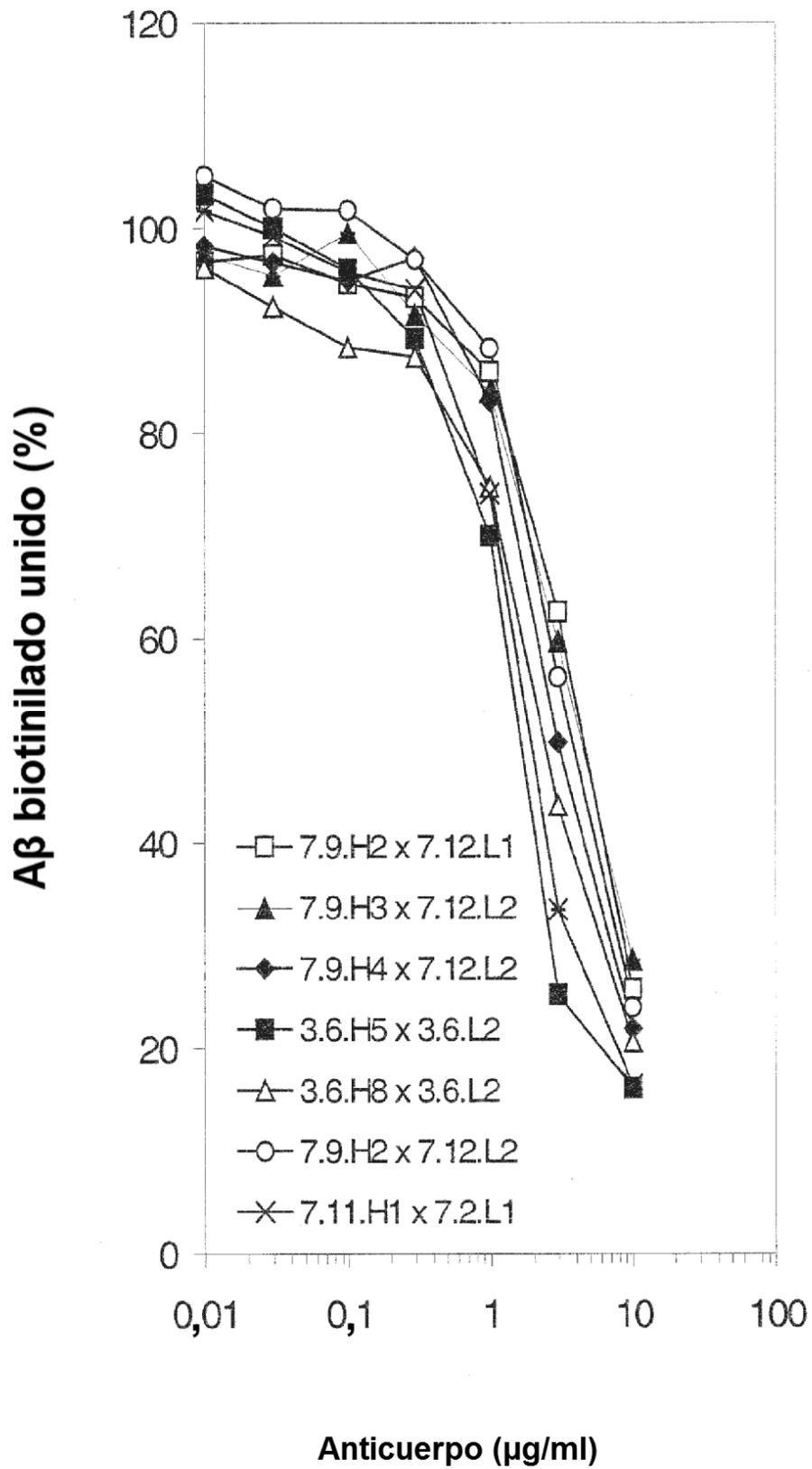


Fig. 9D

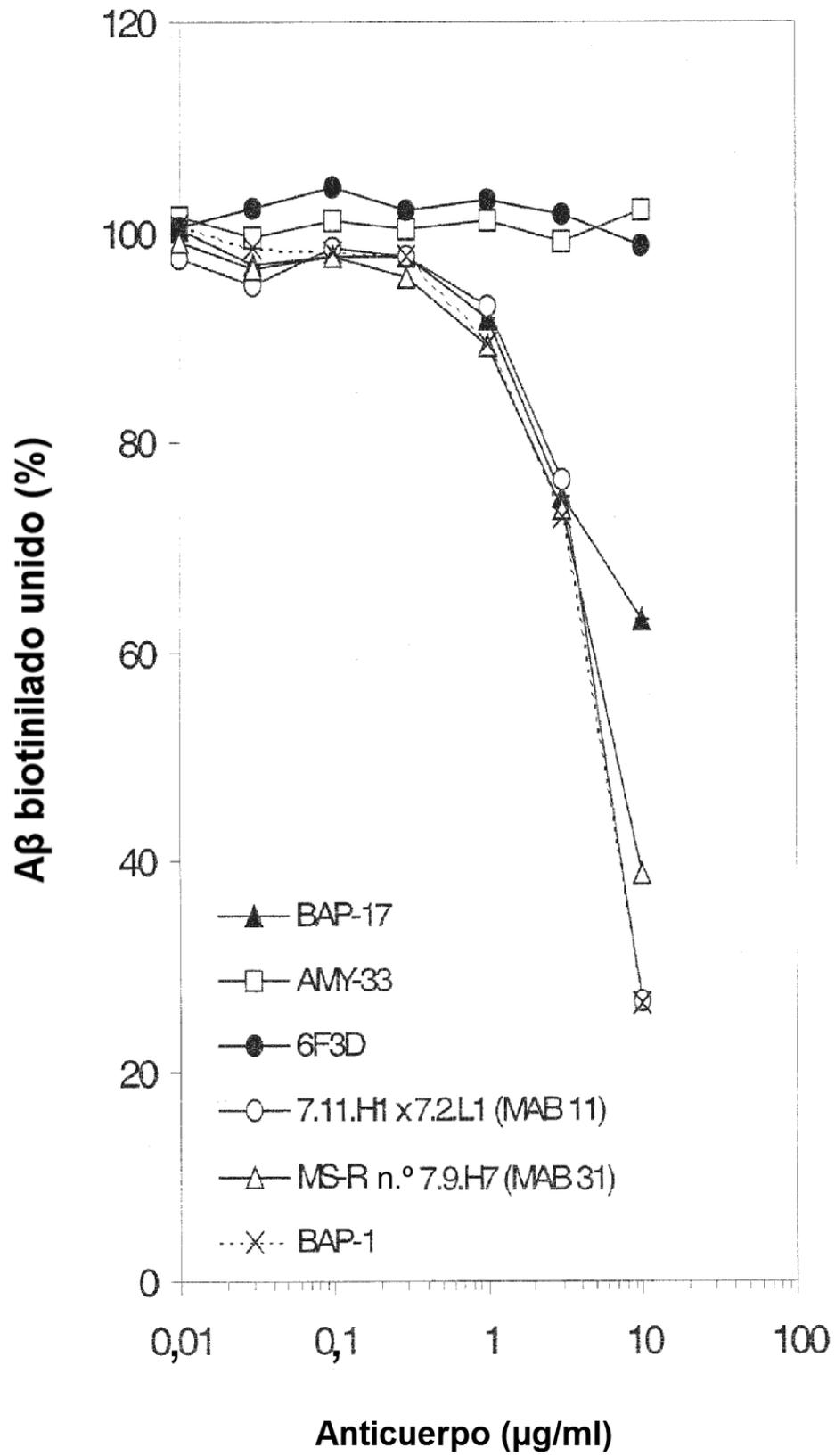


Fig. 10

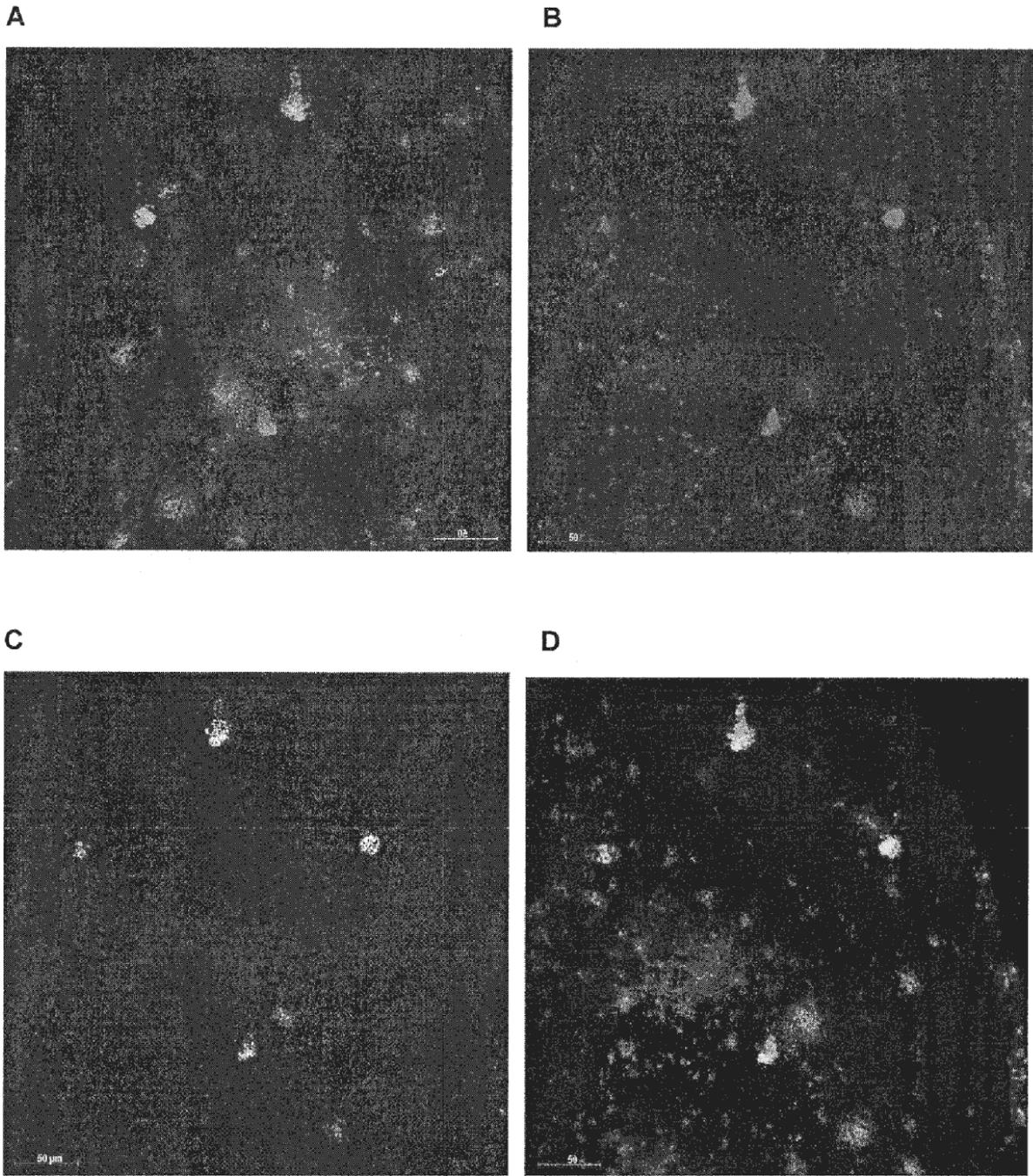


Fig. 11

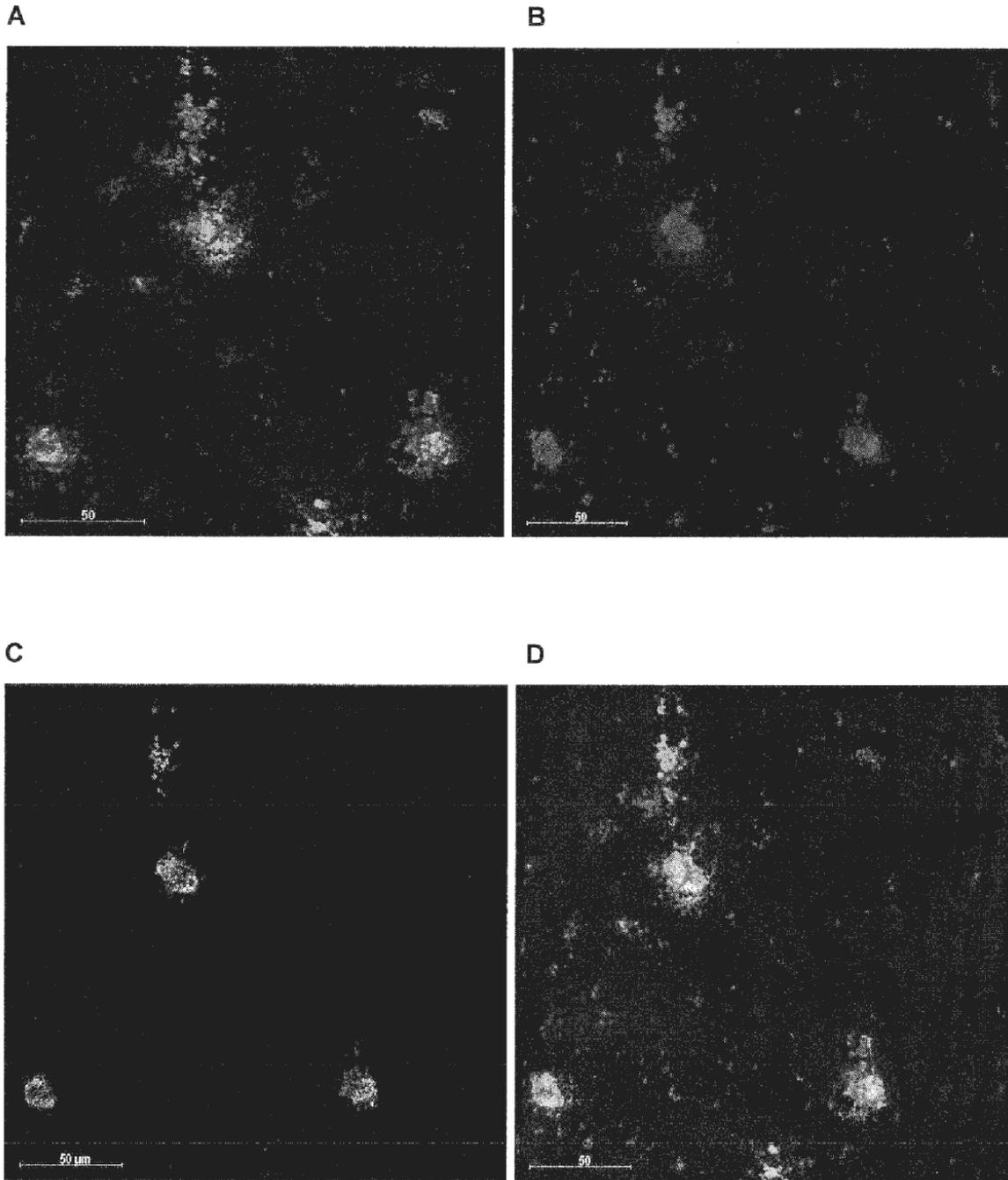


Fig. 12

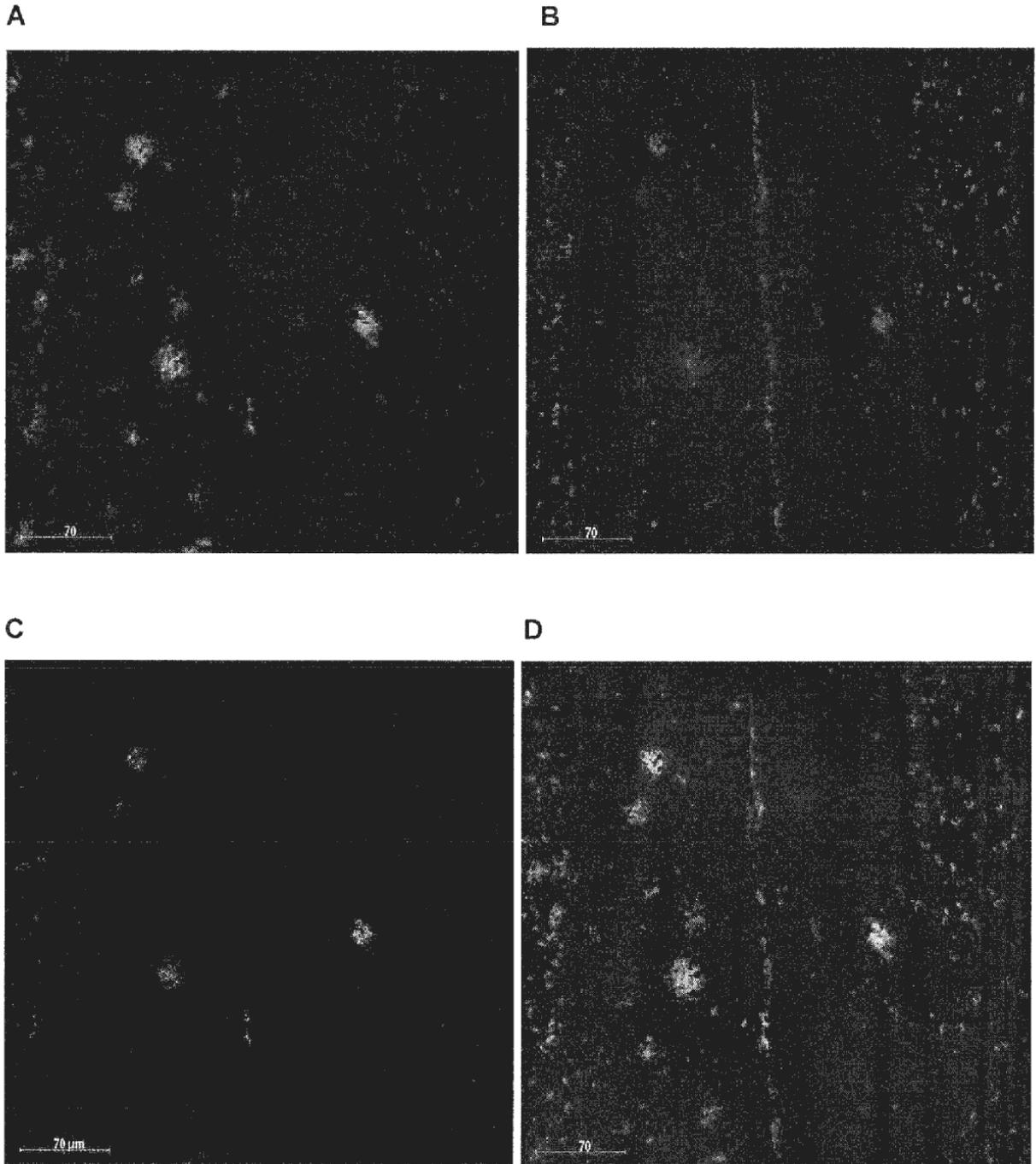


Fig. 13

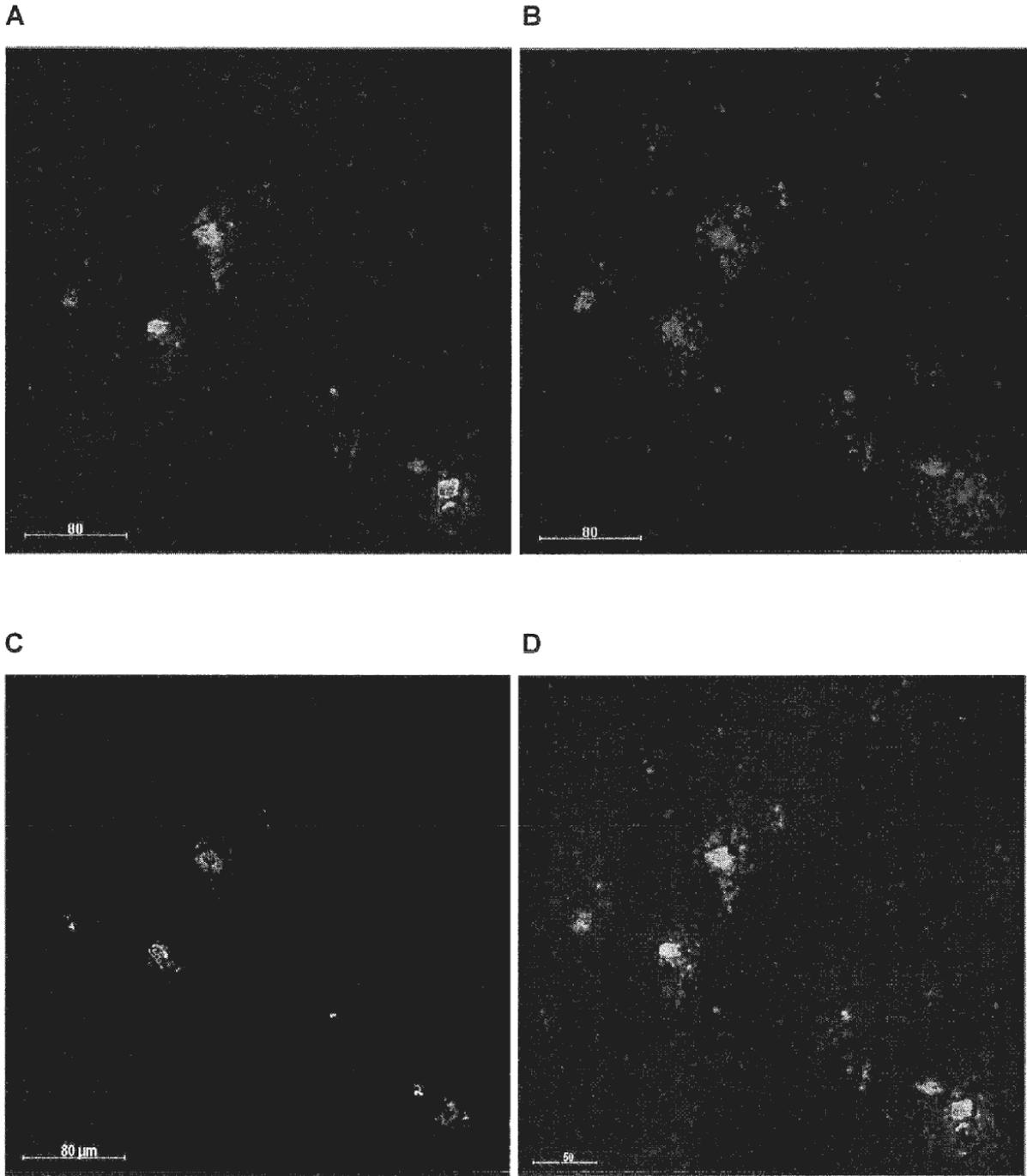


Fig. 14

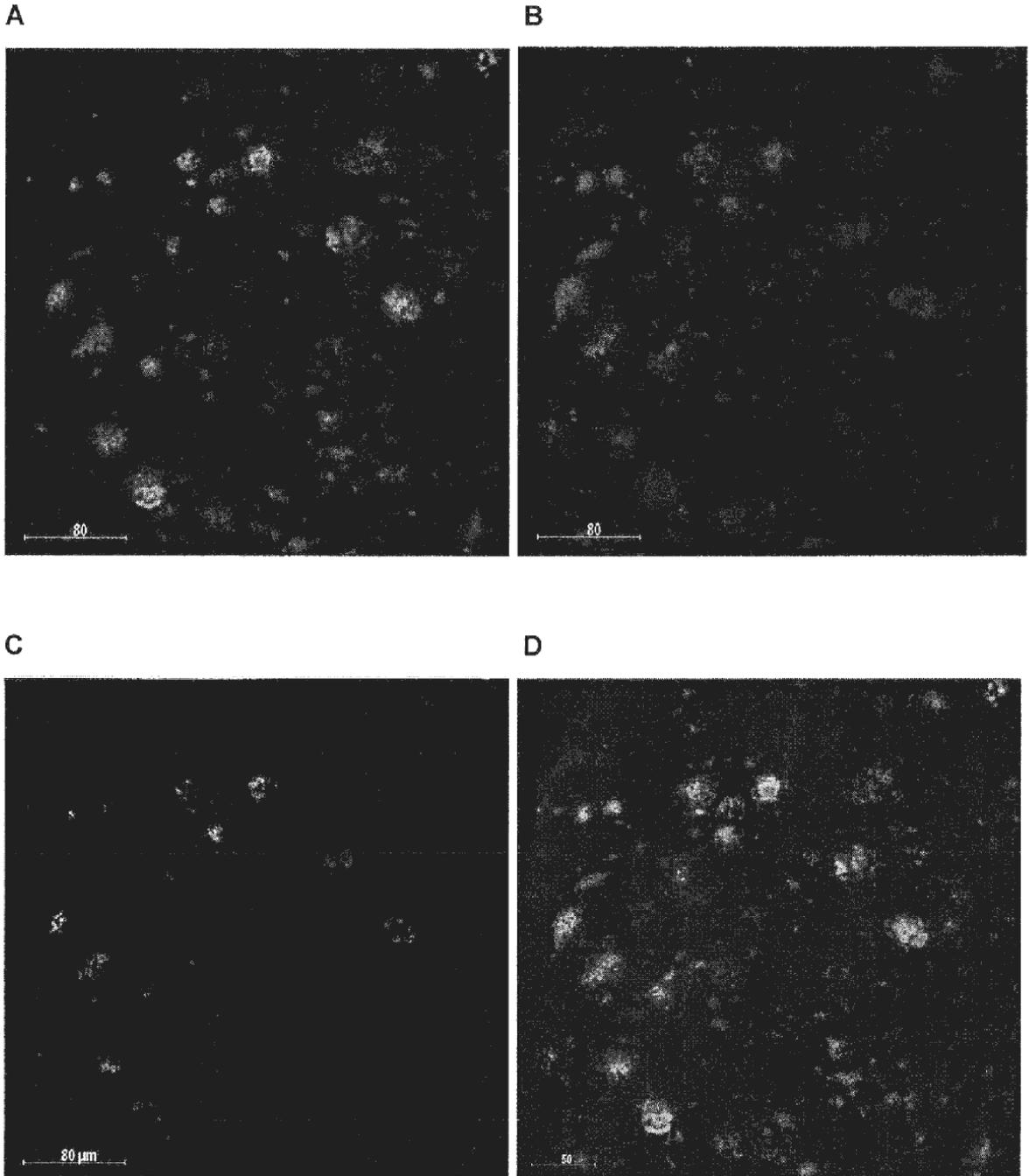


Fig. 15 - 1

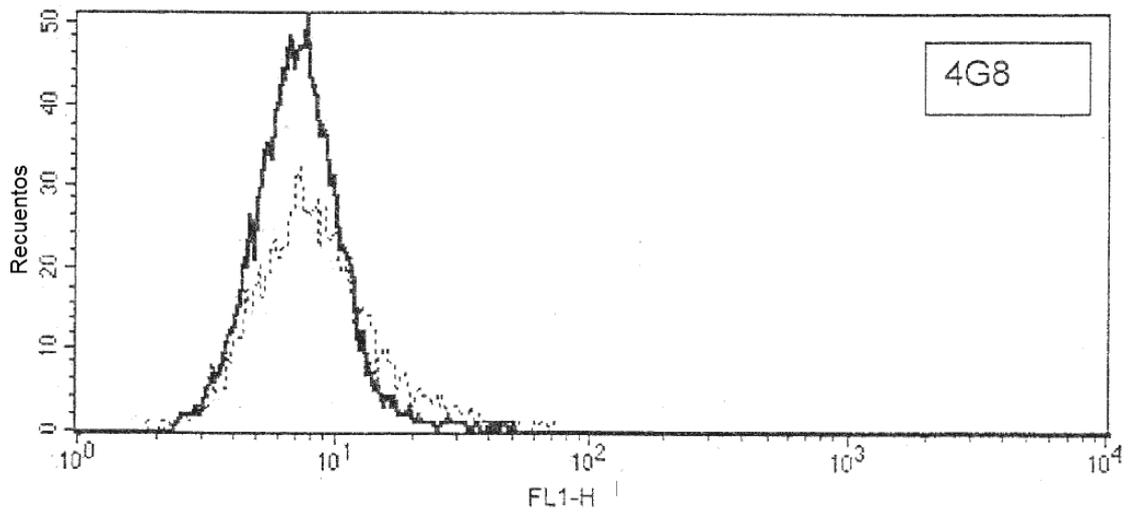
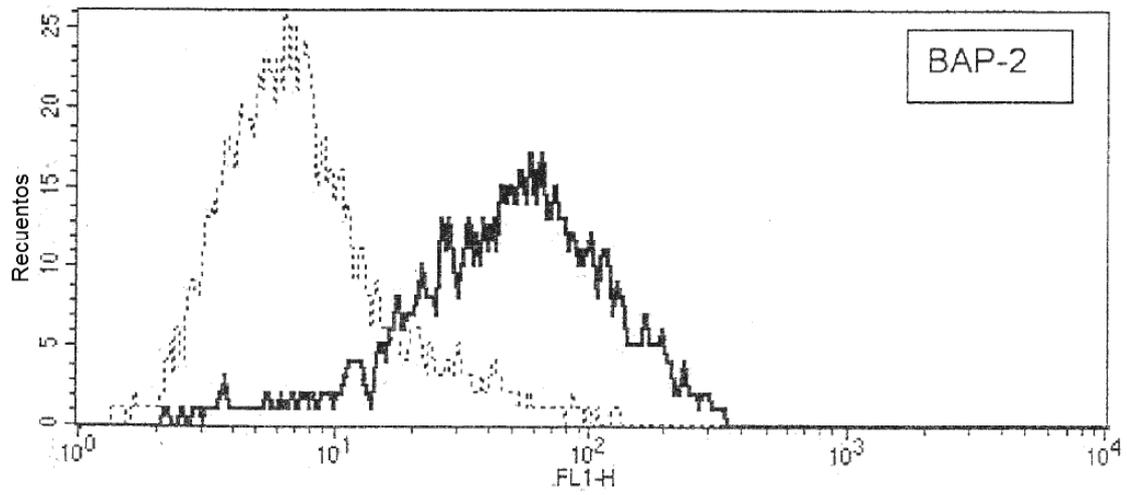
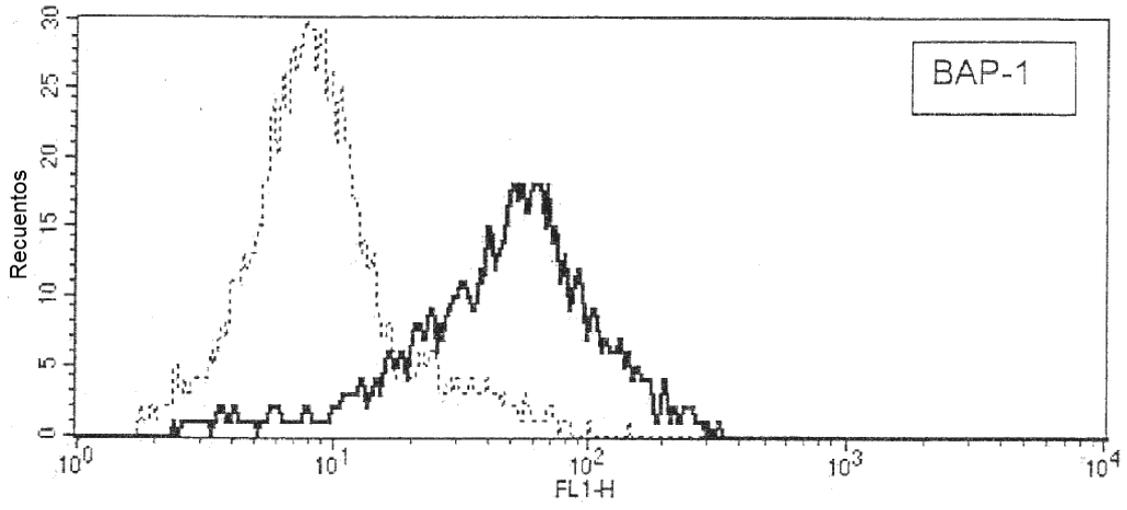


Fig. 15 - 2

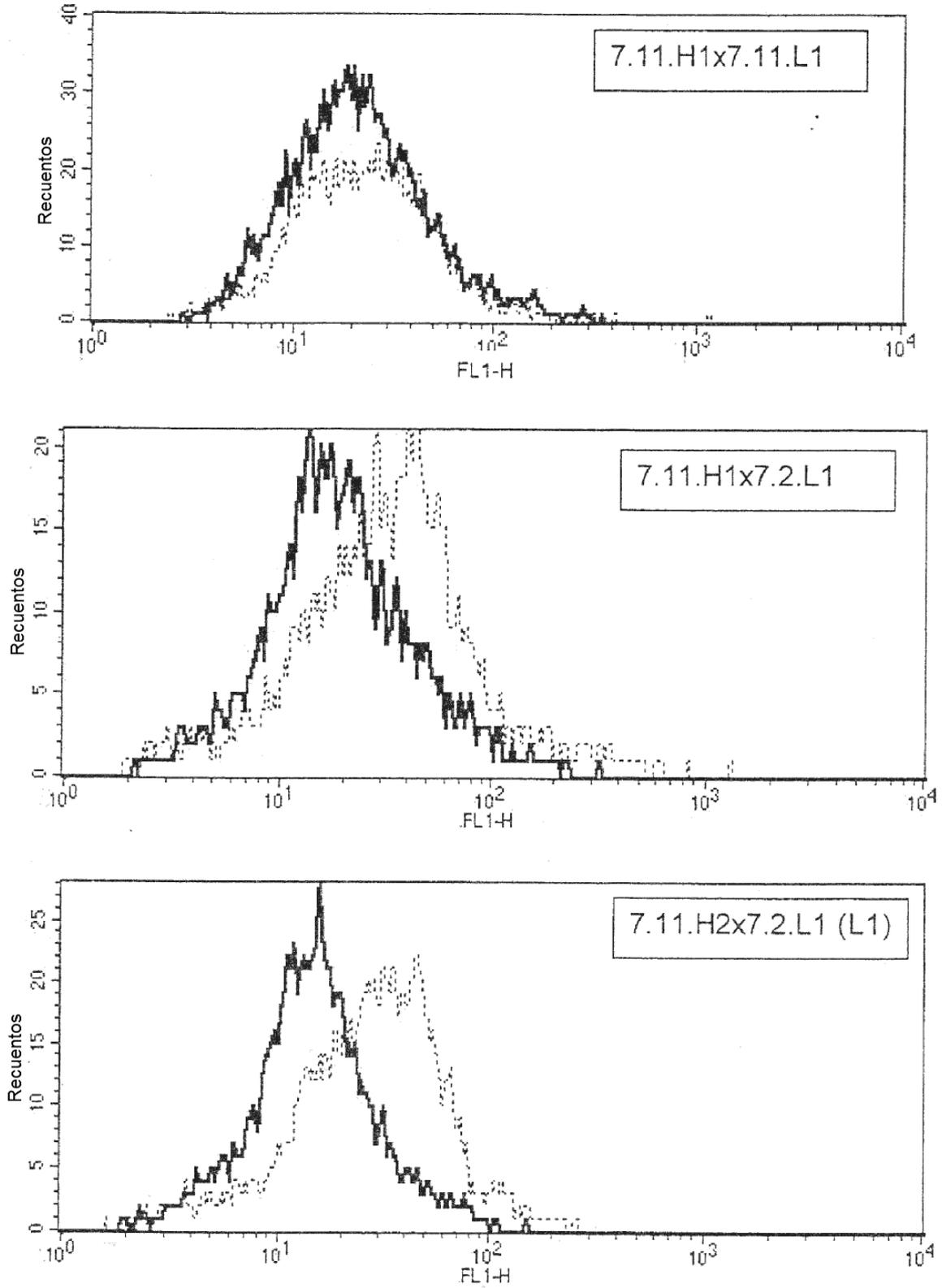


Fig. 15 - 3

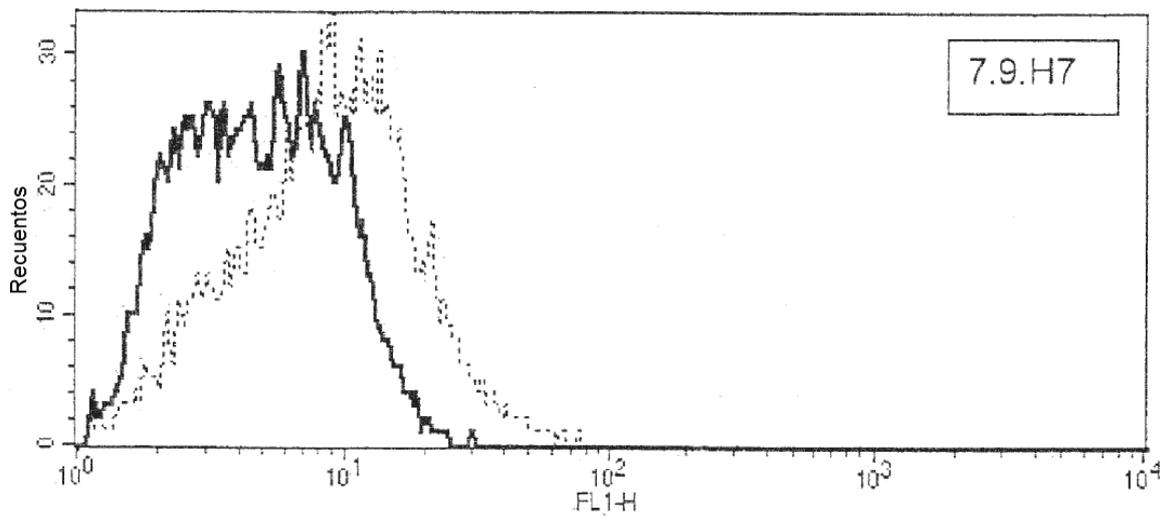
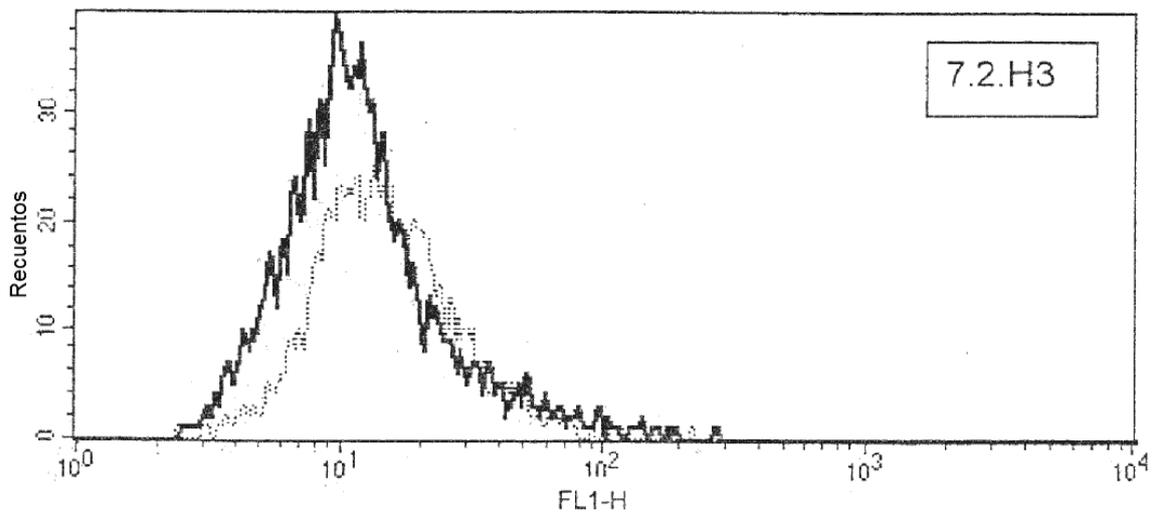
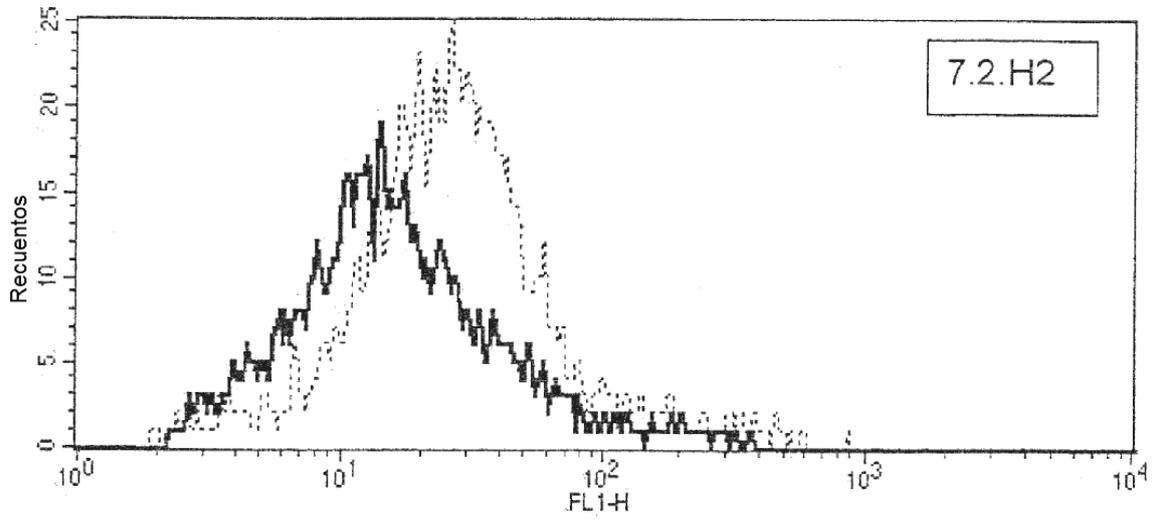


Fig. 15 - 4

