

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 673 153**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28	(2006.01)	C12N 15/113	(2010.01)
A61K 39/395	(2006.01)		
A61P 25/00	(2006.01)		
A61K 31/70	(2006.01)		
A61K 38/16	(2006.01)		
C07K 14/00	(2006.01)		
C07K 16/00	(2006.01)		
C07H 21/00	(2006.01)		
C12N 15/13	(2006.01)		
C12N 5/20	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.01.2008 E 14154372 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.03.2018 EP 2740744**

54 Título: **Anticuerpos Sp35 y usos de los mismos**

30 Prioridad:

09.01.2007 US 879324 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.06.2018

73 Titular/es:

**BIOGEN MA INC. (100.0%)
225 Binney Street
Cambridge, MA 02142, US**

72 Inventor/es:

**MI, SHA;
PEPINSKY, R. BLAKE;
SHAO, ZHAOHUI;
GARBER STARK, ELLEN A.;
MIKLASZ, STEVEN D. y
GRAFF, CHRISTILYN**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 673 153 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 Sp35 y usos de los mismos

5 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo de la invención

La presente invención hace referencia a neurología, neurobiología y biología molecular. Más en particular, la presente invención hace referencia a anticuerpos Sp35, así como a dichos anticuerpos para su uso en el tratamiento de enfermedades, trastornos y lesiones neurológicas tales como una lesión de la médula espinal.

Antecedentes de la invención

Los axones y las dendritas se extienden desde las neuronas. El extremo distal de un axón en extensión incluye una región especializada, conocida como cono de crecimiento. Los conos de crecimiento detectan el entorno local y guían el crecimiento axonal hacia la célula diana de una neurona. Los conos de crecimiento responden a las claves ambientales, por ejemplo, la adhesividad superficial, los factores de crecimiento, los neurotransmisores y los campos eléctricos. Los conos de crecimiento avanzan en general a un ritmo de uno o dos milímetros al día. El cono de crecimiento explora el área que tiene por delante y a los lados, por medio de elongaciones clasificadas como lamelipodios y filopodios. Cuando una elongación entra en contacto con una superficie desfavorable, se retira. Si una elongación entra en contacto con una superficie de crecimiento favorable, continúa extendiéndose y guía el cono de crecimiento en esa dirección. Cuando el cono de crecimiento alcanza una célula diana apropiada se crea una conexión sináptica.

En la función de las células nerviosas influye el contacto entre neuronas y otras células en su entorno inmediato (Rutishauser, *et al.*, 1988, *Physiol. Rev.* 68:819). Estas células incluyen células gliales especializadas, oligodendrocitos en el sistema nervioso central (SNC) y células de Schwann en el sistema nervioso periférico (SNP), que envuelven el axón neuronal con mielina (Lemke, 1992, en *An Introduction to Molecular Neurobiology*, Z. Hall, Ed., pág. 281, Sinauer).

Las neuronas del SNC tienen el potencial intrínseco de regenerarse después de una lesión, pero se inhiben de hacerlo ante la acción de proteínas inhibitoras presentes en la mielina (Brittis *et al.*, 2001, *Neuron* 30:11-14; Jones *et al.*, 2002, *J. Neurosci.* 22:2792-2803; Grimpe *et al.*, 2002, *J. Neurosci.* 22:3144-3160).

Varias proteínas inhibitoras de mielina presentes en los oligodendrocitos han sido caracterizadas. Entre los ejemplos conocidos de proteínas inhibitoras de mielina se incluyen NogoA (Chen *et al.*, *Nature*, 2000, 403, 434-439; Grandpre *et al.*, *Nature* 2000, 403, 439-444), glucoproteína asociada a mielina (MAG) (McKerracher *et al.*, 1994, *Neuron* 13:805-811; Mukhopadhyay *et al.*, 1994, *Neuron* 13:757-767) y glucoproteína de oligodendrocitos (OM-gp), Mikol *et al.*, 1988, *J. Cell. Biol.* 106:1273-1279). Para cada una de estas proteínas se ha demostrado por separado que es un ligando para el receptor neuronal Nogo-1 (NgR1) (Wang *et al.*, *Nature* 2002, 417, 941-944; Grandpre *et al.*, *Nature* 2000, 403, 439-444; Chen *et al.*, *Nature*, 2000, 403, 434-439; Domeniconi *et al.*, *Neuron* 2002, publicado online el 28 de junio de 2002).

El receptor Nogo-1 (NgR1) es una proteína de membrana fijada a GPI que contiene 8 repeticiones ricas en leucina (Fournier *et al.*, 2001, *Nature* 409:341-346). Tras la interacción con proteínas inhibitoras (por ejemplo, NogoA, MAG y OM-gp), el complejo NgR1 transduce señales que llevan al cono de crecimiento a colapsarse y a la inhibición del crecimiento de neuritas.

Existe la necesidad no satisfecha de moléculas y procedimientos para inhibir el colapso del cono de crecimiento mediado por NgR1 y la inhibición resultante del crecimiento de neuritas. Además, existe la necesidad de moléculas que aumenten la supervivencia neuronal y la regeneración de los axones. En particular para el tratamiento de enfermedades, trastornos o lesiones que impliquen una lesión axonal, muerte de células neuronales u oligodendrocitos, desmielinización o dismielinización o se refieran en general al sistema nervioso.

Dichas enfermedades, trastornos o lesiones incluyen, pero no se limitan a, esclerosis múltiple (EM), leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP), encefalomiелitis (EPL), mielinólisis pontina central (MPC), adrenoleucodistrofia, enfermedad de Alexander, enfermedad de Pelizaeus Merzbacher (PMZ), leucodistrofia de células globoides (enfermedad de Krabbe) y degeneración walleriana, neuritis óptica, mielitis transversa, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, lesión de

la médula espinal, lesión por traumatismo craneoencefálico, lesión post-radiación, complicaciones neurológicas de la quimioterapia, accidente cerebrovascular, neuropatía óptica isquémica aguda, deficiencia de vitamina E, síndrome de deficiencia de vitamina E aislado, AR, síndrome de Bassen-Kornzweig, síndrome de Marchiafava-Bignami, leucodistrofia metacromática, neuralgia del trigémino y parálisis de Bell. Entre estas enfermedades, EM es la más extendida, que afecta aproximadamente a 2,5 millones de personas en todo el mundo.

La EM comienza generalmente con un patrón de recidiva-remisión de afectación neurológica que después avanza a una fase crónica con aumento del daño neurológico. La EM se asocia con la destrucción de mielina, oligodendrocitos y axones localizada en lesiones crónicas. La desmielinización observada en la EM no es siempre permanente y se ha documentado remielinización en las fases tempranas de la enfermedad. Para la remielinización de las neuronas se necesitan oligodendrocitos.

Existen varios tratamientos modificadores de la enfermedad para la EM, entre ellos el uso de corticoesteroides e inmunomoduladores tales como interferón beta y Tysabri®. Además, debido al papel fundamental de los oligodendrocitos y la mielinización en la EM, se han hecho esfuerzos para desarrollar terapias que aumenten el número de oligodendrocitos o potencien la mielinización. Véase, por ejemplo, Cohen *et al.*, patente de EE. UU. nº 5.574.009; Chang *et al.*, *N. Engl. J. Med.* 346: 165-73 (2002). El documento WO-2007/008547 describe anticuerpos específicos para Sp35, y procedimientos de uso de dichos anticuerpos como antagonistas de la función de Sp35 endógena. Sin embargo, persiste una necesidad urgente de idear terapias adicionales para la EM y otros trastornos de la desmielinización y dismielinización.

BREVE RESUMEN DE LA INVENCION

La presente descripción se basa en el descubrimiento de que Sp35 (Sp35 también se designa en la bibliografía como LINGO-1 y LRRN6) se expresa en oligodendrocitos y células neuronales y regula negativamente la diferenciación oligodendrocito/neuronal, la supervivencia y la mielinización de los axones. Además, algunos antagonistas de Sp35 promueven la supervivencia, proliferación y diferenciación de oligodendrocitos y células neuronales, así como la mielinización de las neuronas. Basándose en estos descubrimientos, la descripción, que incluye la presente invención, se refiere en general a anticuerpos, fragmentos de unión a antígenos o derivados de los mismos que pueden usarse como antagonistas de Sp35. Más en particular, la presente invención proporciona un anticuerpo aislado que puede unirse específicamente al polipéptido Sp35 humano (SEQ ID NO: 2), donde el anticuerpo comprende:

una región VH que comprende las secuencias CDR1, CDR2 y CDR3 de VH indicadas en SEQ ID NO: 436, SEQ ID NO: 437 y SEQ ID NO: 438, respectivamente; y

una región VL que comprende las secuencias CDR1, CDR2 y CDR3 de VL indicadas en SEQ ID NO: 442, SEQ ID NO: 443 y SEQ ID NO: 444, respectivamente,

donde el anticuerpo se une al polipéptido Sp35 con una afinidad caracterizada por una constante de disociación no mayor que 5×10^{-10} M medido mediante FACS en células CHO transfectadas de forma estable con Sp35 humano, y donde el anticuerpo es IgG1/kappa.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo que puede unirse específicamente al polipéptido Sp35 humano (SEQ ID NO: 2), donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende la región VL de la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 434 y la región VH de la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 433.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo aislado que puede unirse específicamente al polipéptido Sp35 humano (SEQ ID NO: 2), donde el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 434 y la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 435.

En un aspecto adicional todavía, la presente invención proporciona un anticuerpo monocatenario que puede unirse específicamente al polipéptido Sp35 humano (SEQ ID NO: 2), donde el anticuerpo monocatenario comprende:

una región VH que comprende las secuencias CDR1, CDR2 y CDR3 de VH indicadas en SEQ ID NO: 436, SEQ ID NO: 437 y SEQ ID NO: 438, respectivamente; y

una región VL que comprende las secuencias CDR1, CDR2 y CDR3 de VL indicadas en SEQ ID NO: 442, SEQ ID NO: 443 y SEQ ID NO: 444, respectivamente,

donde el anticuerpo se une al polipéptido Sp35 con una afinidad caracterizada por una constante de disociación no mayor que 5×10^{-10} M medido mediante FACS en células CHO transfectadas de forma estable con Sp35 humano, y donde el anticuerpo es IgG1/kappa.

5

En un aspecto adicional todavía, la presente invención proporciona un anticuerpo monocatenario que puede unirse específicamente al polipéptido Sp35 humano (SEQ ID NO: 2), donde el anticuerpo monocatenario comprende la región VL de la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 434 y la región VH de la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 433.

10

En las reivindicaciones adjuntas se describen aspectos y realizaciones adicionales de la invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS/FIGURAS

15 FIG. 1: Gel de SDS-PAGE que muestra la inmunoprecipitación de Sp35 por los anticuerpos monoclonales 1A7 y 2F3.

FIG. 2: Resultado de FACS que muestra que los AMc 1A7 y 2F3 se unieron a las células COS-7 o 293 que expresan Sp35, pero no células control sin expresión Sp35.

20

FIG. 3: los AMc 1A7 y 2F3 protegieron las neuronas GRD de la inhibición mediada por mielina del crecimiento de neuritas.

FIG. 4A-G: Tinción inmunohistoquímica ("IHC") de cocultivos de neuronas GRD y oligodendrocitos tratados con los anticuerpos monoclonales 1A7 y 2F3, o anticuerpo de control. Los paneles D y E son ampliaciones de los paneles B y C, respectivamente. Tinción con anticuerpo anti- β III-tubulina para identificar axones, o anticuerpo anti-MBP para identificar los oligodendrocitos. F: Cuantificación de células mielinizantes MBP+ tras tratamiento de cocultivos con 1A7 o 2F3. G: Análisis Western blot para cuantificar los MBP producidos a partir de cocultivos de neuronas GRD y oligodendrocitos tratados con los anticuerpos monoclonales 1A7 y 2F3.

30

FIG. 5A-C: A: Tinción de anticuerpos CC1 de oligodendrocitos de ratón en modelo de cuprizona. B. Tinción de anticuerpos de proteína anti-MBP o azul de luxol rápido de neuronas de ratón en modelo de cuprizona. C: Cuantificación de oligodendrocitos positivos frente a anticuerpo CC1 a las cuatro semanas y 6 semanas.

35 FIG. 6: CGR supervivientes. Tratamiento con anticuerpo monoclonal 1A7. Los animales tratados con el anticuerpo anti-Sp35 1A7 mostraron una supervivencia neuronal importante (80 %) cuando se compararon con los animales tratados con el anticuerpo de control o con PBS, que mostraron cada uno solo aproximadamente el 50 % de supervivencia neuronal.

40 FIG. 7. Puntuaciones BBB de ratones que recibieron anticuerpo anti-Sp35 1A7 después de una lesión de la médula espinal tal como se describe en el Ejemplo 8.

FIG. 8. La técnica de Western blot de oligodendrocitos y GRD cocultivados después de la incubación con anticuerpos anti-Sp35 Li05, Li06 y 3, 10 y 30 mg de Sp35-Fc (LINGO-1-Ig) tal como se describe en el Ejemplo 9.

45

FIG. 9. Fotografías de los nervios ópticos de A) ratas normales; B) ratas con encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE) inducida por Glucoproteína Mielínica de Oligodendrocitos (MOG); y C) ratas con encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE) inducida por la Glucoproteína Mielínica de Oligodendrocitos (MOG) tratadas con el anticuerpo Sp35 1A7. Debajo de cada fotografía del nervio óptico se muestran micrografías electrónicas de cada nervio óptico.

50

FIG. 10. Gráfica del número de fibras neuronales regenerativas por sección contada en animales que reciben una inyección intravítrea del anticuerpo Sp35 1A7 después de aplastamiento del nervio óptico.

55 FIG. 11. Resultado FACS que muestra que los AMc 3B5.2 (3B5) y 7P1D5.1G9 (1D5) se unieron a células CHO transfectadas de forma estable con Sp35 (LINGO-1).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

60 I. DEFINICIONES

Debe observarse que el término "una" entidad hace referencia a una o más de esa entidad; por ejemplo, se entiende que "un anticuerpo Sp35", representa a uno o más anticuerpos Sp35. De este modo, las expresiones "un" (o "una"), "uno o más" y "al menos uno" pueden usarse indistintamente en el presente documento.

- 5 Tal como se usa en el presente documento, el término "polipéptido" pretende comprender un solo "polipéptido" así como varios "polipéptidos", y hace referencia a una molécula compuesta por monómeros (aminoácidos) unidos linealmente por enlaces de amida (también conocidos como enlaces peptídicos). El término "polipéptido" hace referencia a cualquier cadena o cadenas de dos o más aminoácidos, y no hace referencia a una longitud específica del producto. Así, péptidos, dipéptidos, tripéptidos, oligopéptidos, "proteína", "cadena de aminoácidos", o cualquier otro término usado para referirse a una cadena o cadenas de dos o más aminoácidos, están incluidos dentro de la definición de "polipéptido", y el término "polipéptido" puede usarse en lugar de, o indistintamente con cualquiera de estos términos. El término "polipéptido" también pretende referirse a los productos de modificaciones post-expresión del polipéptido, lo que incluye sin limitación glucosilación, acetilación, fosforilación, amidación, derivatización por grupos de protección/bloqueo conocidos, escisión proteolítica o modificación por aminoácidos no presentes en la naturaleza. Un polipéptido puede derivarse de una fuente biológica natural o producirse mediante una tecnología recombinante, pero no se traduce necesariamente a partir de una secuencia de ácidos nucleicos designada. Puede generarse de cualquier manera, lo que incluye síntesis química.
- 20 Un polipéptido de la descripción puede tener un tamaño de aproximadamente 3 o más, 5 o más, 10 o más, 20 o más, 25 o más, 50 o más, 75 o más, 100 o más, 200 o más, 500 o más, 1.000 o más, o 2.000 o más aminoácidos. Los polipéptidos pueden tener una estructura tridimensional definida, aunque no tienen necesariamente dicha estructura. Los polipéptidos con una estructura tridimensional definida se refieren como plegados, y los polipéptidos que no poseen una estructura tridimensional definida, sino que pueden adoptar un gran número de conformaciones diferentes, se refieren como desplegados. Tal como se usa en el presente documento, el término glucoproteína hace referencia a una proteína acoplada con al menos una fracción de hidrato de carbono que está unida a la proteína por medio de una cadena lateral que contiene oxígeno o que contiene nitrógeno de un residuo de aminoácido, por ejemplo, un residuo de serina o un residuo de asparagina.
- 30 Por polipéptido o fragmento "aislado", variante o derivado del mismo se entiende un polipéptido que no está en su medio natural. No se requiere un nivel determinado de purificación. Por ejemplo, un polipéptido aislado puede extraerse de su entorno nativo o natural. Los polipéptidos y proteínas producidos de forma recombinante y expresados en células hospedadoras se consideran aislados para los fines de la descripción, ya que son polipéptidos nativos o recombinantes que han sido separados, fraccionados o purificados parcial o sustancialmente por cualquier técnica adecuada.

Como polipéptidos de la presente descripción se incluyen también fragmentos, derivados, análogos o variantes de los polipéptidos anteriores, y cualquier combinación de los mismos. Los términos "fragmento", "variante", "derivado" y "análogo" cuando hacen referencia a anticuerpos Sp35 o polipéptidos de anticuerpos incluyen cualquier polipéptido que conserve al menos algunas de las propiedades de unión a antígeno del anticuerpo o polipéptido nativo correspondiente. Los fragmentos de polipéptidos incluyen fragmentos proteolíticos, así como fragmentos de delección, además de fragmentos de anticuerpos específicos descritos en otro lugar en el presente documento. Las variantes de anticuerpos Sp35 y los polipéptidos de anticuerpos incluyen fragmentos tal como se describe anteriormente, y también polipéptidos con secuencias de aminoácidos alteradas debido a sustituciones de aminoácidos, deleciones o inserciones. Las variantes pueden estar presentes en la naturaleza o no estar presentes en la naturaleza. Las variantes no presentes en la naturaleza pueden producirse usando técnicas de mutagénesis conocidas en la técnica. Las variantes de polipéptidos pueden comprender sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos conservadoras o no conservadoras. Los derivados de anticuerpos Sp35 y polipéptidos de anticuerpos son polipéptidos que han sido alterados de manera que muestren características adicionales no presentes en el polipéptido nativo. Los ejemplos incluyen proteínas de fusión. Las variantes de polipéptidos también pueden referirse en el presente documento como "análogos de polipéptidos". Tal como se usa en el presente documento un "derivado" de un anticuerpo Sp35 o polipéptido de anticuerpo hace referencia a un polipéptido objeto que tiene uno o más residuos derivatizados químicamente por reacción de un grupo lateral funcional. También se incluyen como "derivados" aquellos péptidos que contienen uno o más derivados de aminoácidos presentes en la naturaleza de los veinte aminoácidos estándar. Por ejemplo, la 4-hidroxiprolina puede sustituirse por prolina; la 5-hidroxilisina puede sustituirse por lisina; la 3-metilhistidina puede sustituirse por histidina; la homoserina puede sustituirse por serina; y la ornitina puede sustituirse por lisina.

El término "polinucleótido" pretende comprender un único ácido nucleico, así como varios ácidos nucleicos, y hace referencia a una molécula o construcción de ácido nucleico aislado, por ejemplo, ARN mensajero (ARNm) o ADN de

plásmido (ADNp). Un polinucleótido puede comprender un enlace de fosfodiéster convencional o un enlace no convencional (por ejemplo, un enlace de amida, tal como el presente en ácidos nucleicos peptídicos (PNA)). La expresión "ácido nucleico" hace referencia a uno cualquiera o más segmentos de ácidos nucleicos, por ejemplo, fragmentos de ADN o ARN, presentes en un polinucleótido. Por ácido nucleico o polinucleótido "aislado" se entiende una molécula de ácido nucleico, ADN o ARN, que ha sido extraída de su entorno nativo. Por ejemplo, un polinucleótido recombinante que codifica un anticuerpo Sp35 contenido en un vector se considera aislado para los fines de la presente descripción. Los ejemplos adicionales de un polinucleótido aislado incluyen polinucleótidos recombinantes mantenidos en células hospedadoras heterólogas o polinucleótidos purificados (parcial o sustancialmente) en solución. Las moléculas de ARN aisladas incluyen transcripciones de ARN *in vivo* o *in vitro* de polinucleótidos. Los polinucleótidos o ácidos nucleicos aislados incluyen además dichas moléculas producidas sintéticamente. Además, el polinucleótido o ácido nucleico puede ser o puede incluir un elemento regulador tal como un promotor, un sitio de unión a ribosomas o un terminador de transcripción.

Tal como se usa en el presente documento, una "región codificante" es una parte de ácido nucleico que consiste en codones traducidos en aminoácidos. Aunque un "codón de terminación" (TAG, TGA, o TAA) no se traduce en un aminoácido, puede considerarse parte de una región codificante, pero cualquier secuencia de flanqueo, por ejemplo, los promotores, los sitios de unión a ribosomas, los terminadores transcripcionales, los intrones, y similares, no son parte de una región codificante. Dos o más regiones codificantes de la presente descripción pueden estar presentes en una única construcción de polinucleótidos, por ejemplo, en un único vector, o en construcciones de polinucleótidos separados, por ejemplo, en vectores separados (diferentes). Además, cualquier vector puede contener una única región codificante, o puede comprender dos o más regiones codificantes, por ejemplo, un único vector puede codificar por separado una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina y una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina. Además, un vector, polinucleótido o ácido nucleico de la descripción puede codificar regiones codificantes heterólogas, fusionadas o no fusionadas con un ácido nucleico que codifica un anticuerpo Sp35 o fragmento, variante o derivado del mismo. Las regiones codificantes heterólogas incluyen sin limitación elementos o motivos especializados, tales como un péptido señal secretor o un dominio funcional heterólogo.

En algunos casos, el polinucleótido o ácido nucleico es ADN. En el caso de ADN, un polinucleótido que comprende un ácido nucleico que codifica un polipéptido normalmente puede incluir un promotor y/u otros elementos de control de transcripción o traducción asociados operativamente con una o más regiones codificantes. Una asociación operativa se produce cuando una región codificante para un producto génico, por ejemplo, un polipéptido, se asocia con una o más secuencias reguladoras de tal manera que sitúa la expresión del producto génico bajo la influencia o control de la secuencia(s) reguladora(s). Dos fragmentos de ADN (tales como una región codificante de polipéptidos y un promotor asociado con la misma) están "asociados operativamente" si la inducción de la función de promotor produce la transcripción de ARNm que codifica el producto génico deseado y si la naturaleza de la unión entre los dos fragmentos de ADN no interfiere con la capacidad de las secuencias reguladoras de expresión de dirigir la expresión del producto génico o interferir con la capacidad de la plantilla de ADN de ser transcrita. Así, una región de promotor estaría asociada operativamente con un ácido nucleico que codifica un polipéptido si el promotor fue capaz de llevar a cabo la transcripción de dicho ácido nucleico. El promotor puede ser un promotor específico de la célula que dirige la transcripción sustancial del ADN solo en las células predeterminadas. Otros elementos de control de transcripción, además de un promotor, por ejemplo, potenciadores, operadores, represores y señales de terminación de transcripción, pueden asociarse operativamente con el polinucleótido para dirigir la transcripción específica de las células. En el presente documento se describen los promotores adecuados y otras regiones de control de transcripción.

Los expertos en la materia conocen diversas regiones de control de transcripción. Entre ellas se incluyen, sin limitación, regiones de control de transcripción que actúan en las células de los vertebrados, tales como, pero sin limitarse a ellos, segmentos promotores y potenciadores de citomegalovirus (el promotor temprano inmediato, en conjunción con intrón A), virus de simio 40 (el promotor temprano) y retrovirus (tales como virus del sarcoma de Rous). Otras regiones de control de transcripción incluyen las derivadas de genes de vertebrados tales como actina, proteína de choque térmico, hormona de crecimiento bovino y β -globina de conejo, así como otras secuencias capaces de controlar la expresión génica en células eucariotas. Las regiones de control de transcripción adecuadas adicionales incluyen promotores y potenciadores específicos de tejidos, así como promotores inducibles por linfocinas (por ejemplo, promotores inducibles por interferones o interleucinas).

De forma similar, los expertos en la materia conocen diversos elementos de control de traducción. Estos incluyen, pero no se limitan a sitios de unión a ribosomas, codones de inicio y terminación de traducción y elementos derivados de picornavirus (en particular un sitio de entrada a ribosomas interno, o IRES, también referido como secuencia CITE).

En otros casos, un polinucleótido de la presente descripción es ARN, por ejemplo, en forma de ARN mensajero (ARNm).

- 5 Las regiones codificantes de polinucleótidos y ácidos nucleicos de la presente descripción pueden asociarse con regiones codificantes adicionales que codifican péptidos secretores o señal, que dirigen la secreción de un polipéptido codificado por un polinucleótido de la presente descripción. De acuerdo con la hipótesis de señal, las proteínas secretadas por células de mamíferos tienen una secuencia delantera secretora o de péptido señal que se escinde de la proteína madura una vez que se ha iniciado la exportación de la cadena de proteínas en crecimiento a lo largo del retículo endoplásmico rugoso. Los expertos en la materia saben que los polipéptidos secretados por células de vertebrados tienen en general un péptido señal fusionado en el terminal N del polipéptido, que se escinde del polipéptido completo o de "longitud completa" para producir una forma secretada o "madura" del polipéptido. En algunos casos, se usa el péptido señal nativo, por ejemplo, un péptido señal de cadena pesada o cadena ligera de inmunoglobulina, o un derivado funcional del cual la secuencia conserva la capacidad de dirigir la secreción del polipéptido que está asociado operativamente con él. Alternativamente, puede usarse un péptido señal de mamífero heterólogo, o un derivado funcional del mismo. Por ejemplo, la secuencia delantera de tipo natural puede sustituirse por la secuencia delantera del activador de plasminógeno tisular (TPA) humano o β -glucuronidasa de ratón.

La presente descripción se dirige a ciertos anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos. Salvo que se haga referencia específicamente a los anticuerpos de tamaño completo tales como anticuerpos presentes en la naturaleza, la expresión "anticuerpos Sp35" comprende anticuerpos de tamaño completo así como fragmentos de unión a antígenos, variantes, análogos o derivados de dichos anticuerpos, por ejemplo, moléculas de anticuerpos o inmunoglobulinas presentes en la naturaleza o moléculas o fragmentos de anticuerpos diseñados que se unen a antígeno de una forma similar a moléculas de anticuerpo.

25 Los términos "anticuerpo" y "inmunoglobulina" se usan indistintamente en el presente documento. Un anticuerpo o inmunoglobulina comprende al menos el dominio variable de una cadena pesada, y normalmente comprende al menos los dominios variables de una cadena pesada y una cadena ligera. Las estructuras de inmunoglobulinas básicas en sistemas de vertebrados se conocen relativamente bien. Véase, por ejemplo, Harlow *et al.*, *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2ª ed. 1988).

Tal como se expondrá con más detalle más adelante, el término "inmunoglobulina" comprende varias clases extensas de polipéptidos que pueden distinguirse bioquímicamente. Los expertos en la materia observarán que las cadenas pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta o épsilon, (γ , μ , α , δ , ϵ) con algunas subclases entre ellas (por ejemplo, γ 1- γ 4). La naturaleza de esta cadena es la que determina la "clase" del anticuerpo como IgG, IgM, IgA, IgG o IgE, respectivamente. Las subclases de inmunoglobulinas (isotipos) por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, etc., están bien caracterizadas y se sabe que confieren especialización funcional. Las versiones modificadas de cada una de estas clases e isotipos son fácilmente discernibles para el experto en la materia a la vista de la presente descripción y, por consiguiente, están dentro del alcance de la presente descripción. Todas las clases de inmunoglobulinas están claramente dentro del alcance de la presente descripción, y la exposición mostrada a continuación se dirigirá en general a la clase IgG de moléculas de inmunoglobulina. En lo que respecta a IgG, una molécula de inmunoglobulina estándar comprende dos polipéptidos de cadena ligera idénticos de peso molecular de aproximadamente 23.000 daltons, y dos polipéptidos de cadena pesada idénticos de peso molecular 53.000-70.000. Las cuatro cadenas están unidas normalmente por enlaces disulfuro en una configuración en "S" donde las cadenas ligeras enmarcan las cadenas pesadas que empiezan en la parte abierta de la "S" y continúan a través de la región variable.

Las cadenas ligeras se clasifican como kappa o lambda (κ , λ). Cada clase de cadenas pesadas puede estar unida con una cadena ligera kappa o lambda. En general, las cadenas ligeras y pesadas están unidas de forma covalente entre sí, y las partes de "cola" de las dos cadenas pesadas están unidas entre sí por enlaces disulfuro covalentes o enlaces no covalentes cuando las inmunoglobulinas son generadas por hibridomas, linfocitos B o células hospedadoras diseñadas genéticamente. En la cadena pesada, las secuencias de aminoácidos discurren desde un terminal N en los extremos bifurcados de la configuración en S al extremo C en la parte inferior de cada cadena.

55 Las cadenas ligeras y pesadas se dividen en regiones de homología estructural y funcional. Los términos "constante" y "variable" se usan funcionalmente. A este respecto, se observará que los dominios variables de las porciones de cadena ligera (V_L) y pesada (V_H) determinan el reconocimiento y la especificidad de los antígenos. Por el contrario, los dominios constantes de la cadena ligera (C_L) y la cadena pesada (C_{H1} , C_{H2} o C_{H3}) confieren importantes propiedades biológicas tales como secreción, movilidad transplacentaria, unión a receptores Fc, unión de complemento y similares. Por convención la numeración de los dominios de región constante aumenta a medida que

se hacen más distales desde el sitio de unión a antígeno o extremo amino del anticuerpo. La parte en el extremo N es una región variable y la parte en el extremo C es una región constante; los dominios C_{H3} y C_L comprenden realmente el extremo carboxi de la cadena pesada y ligera, respectivamente.

- 5 Tal como se indica anteriormente, la región variable permite que el anticuerpo reconozca selectivamente y se una específicamente a epítomos en los antígenos. Es decir, el dominio V_L y el dominio V_H, o subconjunto de las regiones de determinación de complementariedad (CDR), de un anticuerpo se combinan para formar la región variable que define un sitio de unión a antígeno tridimensional. Esta estructura de anticuerpos cuaternaria forma el sitio de unión a antígeno presente en el extremo de cada brazo de la S. Más específicamente, el sitio de unión a antígeno está
- 10 definido por tres CDR en cada una de las cadenas V_H y V_L. En algunos casos, por ejemplo, ciertas moléculas de inmunoglobulina obtenidas de especies de camélidos o diseñadas con base en inmunoglobulinas de camélido, una molécula de inmunoglobulina completa puede consistir solo en cadenas pesadas, sin cadenas ligeras. Véase, por ejemplo, Hamers-Casterman *et al.*, *Nature* 363:446-448 (1993).
- 15 En anticuerpos presentes en la naturaleza, las seis "regiones de determinación de complementariedad" o "CDR" presentes en cada dominio de unión a antígeno son secuencias de aminoácidos cortas no contiguas que están colocadas específicamente para formar el dominio de unión a antígeno cuando el anticuerpo asume su configuración tridimensional en un entorno acuoso. El resto de los aminoácidos en los dominios de unión a antígeno, referidos como regiones "marco", muestran menos variabilidad intermolecular. Las regiones marco adoptan en gran medida
- 20 una conformación en lámina β y las CDR forman bucles que conectan, y en algunos casos forman parte de, la estructura de lámina β. Así, las regiones marco actúan para formar un andamiaje que facilita la colocación de las CDR en la orientación correcta mediante interacciones no covalentes entre cadenas. El dominio de unión a antígeno formado por las CDR colocadas define una superficie complementaria al epítomo en el antígeno inmunorreactivo. Esta superficie complementaria promueve la unión no covalente del anticuerpo a su epítomo equivalente. Los
- 25 aminoácidos que comprenden las CDR y las regiones marco, respectivamente, pueden ser identificadas fácilmente para cualquier región variable de cadena pesada o ligera por un experto en la materia, dado que han sido definidas con precisión (véase, "Sequences of Proteins of Immunological Interest", Kabat, E., *et al.*, U.S. Department of Health and Human Services, (1983); y Chothia y Lesk, *J. Mol. Biol.*, 196:901-917 (1987)).
- 30 En el caso en que existan dos o más definiciones de un término que se usan y/o aceptan en la técnica, la definición del término tal como se usa en el presente documento pretende incluir todos estos significados salvo que se indique explícitamente lo contrario. Un ejemplo concreto es el uso de la expresión "región de determinación de complementariedad" ("CDR") para describir el antígeno no contiguo que combina sitios presentes dentro de la región variable de los polipéptidos de cadena pesada y ligera. Esta región concreta ha sido descrita por Kabat *et al.*, U.S.
- 35 Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" (1983) y por Chothia *et al.*, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987), donde las definiciones incluyen superposiciones o subconjuntos de residuos de aminoácidos comparados entre sí. No obstante, la aplicación de cualquier definición para referirse a una CDR de un anticuerpo o variantes del mismo pretende situarse dentro del alcance del término tal como se define y se usa en el presente documento. En la tabla I se recogen de forma comparada los residuos de aminoácidos apropiados que
- 40 comprenden las CDR tal como se define en cada una de las referencias citadas anteriormente. Los números de residuos exactos que comprenden una CDR en particular variarán dependiendo de la secuencia y el tamaño de la CDR. Los expertos en la materia pueden determinar de forma rutinaria los residuos que comprenden una CDR en particular dada la secuencia de aminoácidos de región variable del anticuerpo.

45

TABLA 1. Definiciones CDR¹

	Kabat	Chothia
CDR1 V _H	31-35	26-32
CDR2 V _H	50-65	52-58
CDR3 V _H	95-102	95-102
CDR1 V _L	24-34	26-32
CDR2 V _L	50-56	50-52
CDR3 V _L	89-97	91-96

¹ La numeración de todas las definiciones de CDR de la tabla 1 es conforme con las convenciones de numeración indicadas por Kabat *et al.* (véase más adelante).

- 50 Kabat *et al.* también definieron un sistema de numeración para secuencias de dominio variable que es aplicable a cualquier anticuerpo. Un experto en la materia puede asignar sin ambigüedades este sistema de "numeración de Kabat" a cualquier secuencia de dominio variable, sin depender de ningún dato experimental más allá de la secuencia en sí. Tal como se usa en el presente documento, "numeración de Kabat" hace referencia al sistema de

numeración expuesto por Kabat *et al.*, U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequence of Proteins of Immunological Interest" (1983). Salvo que se especifique lo contrario, las referencias a la numeración de posiciones específicas de los residuos de aminoácidos en un anticuerpo Sp35 o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo están de acuerdo con el sistema de numeración de Kabat.

5

En especies de camélidos, la región variable de cadena pesada, referida como V_{HH} , forma el dominio de unión a antígeno completo. Las principales diferencias entre las regiones variables V_{HH} de camélidos y las derivadas de anticuerpos convencionales (V_H) incluyen (a) más aminoácidos hidrófobos en la cadena ligera entran en contacto con la superficie de V_H que con la región correspondiente en V_{HH} , (b) una CDR3 más larga en V_{HH} , y (c) la frecuente
10 aparición de un enlace disulfuro entre CDR1 y CDR3 en V_{HH} .

Los anticuerpos o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos policlonales, monoclonales, multiespecíficos, humanos, humanizados, primatizados o quiméricos, anticuerpos monocatenarios, fragmentos de unión a epítomos, por ejemplo, Fab, Fab' y $F(ab')_2$, Fd, Fv,
15 Fv de cadena sencilla (scFv), anticuerpos monocatenarios, Fv unidos a disulfuro (sdFv), fragmentos que comprenden un dominio V_L o V_H , fragmentos producidos por una biblioteca de expresión Fab y anticuerpos antiidiotípicos (anti-Id) (que incluyen, por ejemplo, anticuerpos anti-Id para anticuerpos Sp35 descritos en el presente documento). Las moléculas ScFv son conocidas en la técnica y se describen, por ejemplo, en la patente de EE. UU. 5.892.019. Las moléculas de inmunoglobulina o anticuerpos de la descripción pueden ser de cualquier tipo (por
20 ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY), clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) o subclase de molécula de inmunoglobulina.

Los fragmentos de anticuerpos, incluidos los anticuerpos monocatenarios, pueden comprender la región(es) variable(s) en solitario o en combinación con una parte o la totalidad de lo siguiente: región bisagra,
25 dominios C_{H1} , C_{H2} y C_{H3} . Además, se incluyen en la descripción los fragmentos de unión a antígenos que comprenden también cualquier combinación de región o regiones variables con una región bisagra, dominios C_{H1} , C_{H2} y C_{H3} . Los anticuerpos o fragmentos inmuno-específicos de los mismos para el uso en los procedimientos diagnósticos y terapéuticos descritos en el presente documento pueden ser de cualquier origen animal lo que incluye aves y mamíferos. Preferentemente, los anticuerpos son anticuerpos humanos, murinos, de burro, conejo, cabra,
30 cobaya, camello, llama, caballo o pollo. En otro caso, la región variable puede tener un origen de conductivos (por ejemplo, de tiburones). Tal como se usa en el presente documento, los anticuerpos "humanos" incluyen anticuerpos que tienen la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina humana e incluyen anticuerpos aislados de bibliotecas de inmunoglobulinas humanas o de animales transgénicos para una o más inmunoglobulinas humanas y que no expresan inmunoglobulinas endógenas, tal como se describe más adelante y, por ejemplo, en la patente de
35 EE. UU. nº 5.939.598 para Kucherlapati *et al.*

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "porción de cadena pesada" incluye secuencias de aminoácidos derivadas de una cadena pesada de inmunoglobulina. Un polipéptido que comprende una porción de
40 cadena pesada comprende al menos uno de entre: un dominio C_{H1} , un dominio bisagra (por ejemplo, región bisagra superior, media y/o inferior), un dominio C_{H2} , un dominio C_{H3} o una variante o fragmento de los mismos. Por ejemplo, un polipéptido de unión puede comprender una cadena de polipéptidos que comprende un dominio C_{H1} ; una cadena de polipéptidos que comprende un dominio C_{H1} , al menos una parte de un dominio bisagra y un dominio C_{H2} ; una cadena de polipéptidos que comprende un dominio C_{H1} y un dominio C_{H3} ; una cadena de polipéptidos que
45 comprende un dominio C_{H1} , al menos una parte de un dominio bisagra, y un dominio C_{H3} , o una cadena de polipéptidos que comprende un dominio C_{H1} , al menos una parte de un dominio bisagra, un dominio C_{H2} y un dominio C_{H3} . En otro caso, un polipéptido de la descripción comprende una cadena de polipéptidos que comprende un dominio C_{H3} . Además, un polipéptido de unión para el uso en la descripción puede carecer de al menos una parte de un dominio C_{H2} (por ejemplo, parte o la totalidad de un dominio C_{H2}). Tal como se expone anteriormente, un
50 experto en la materia entenderá que estos dominios (por ejemplo, las porciones de cadena pesada) pueden modificarse de manera que varíen en la secuencia de aminoácidos con respecto a la molécula de inmunoglobulina presente en la naturaleza.

En ciertos anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos descritos en el presente documento, las porciones de cadena pesada de una cadena de polipéptidos de un multímero son
55 idénticas a las de una segunda cadena de polipéptidos del multímero. Alternativamente, los monómeros que contienen la porción de cadena pesada de la descripción no son idénticos. Por ejemplo, cada monómero puede comprender un sitio de unión diana diferente, para formar, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico.

Las porciones de cadena pesada de un polipéptido de unión para el uso en los procedimientos diagnósticos y
60 terapéuticos descritos en el presente documento pueden derivarse de diferentes moléculas de inmunoglobulina. Por

ejemplo, una porción de cadena pesada de un polipéptido puede comprender un dominio C_H1 derivado de una molécula de IgG1 y una región bisagra derivada de una molécula de IgG3. En otro ejemplo, una porción de cadena pesada puede comprender una región bisagra derivada, en parte, de una molécula de IgG1 y, en parte, de una molécula de IgG3. En otro ejemplo, una porción de cadena pesada puede comprender una bisagra quimérica derivada, en parte, de una molécula de IgG1 y, en parte, de una molécula de IgG4.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "porción de cadena ligera" incluye secuencias de aminoácidos derivadas de una cadena ligera de inmunoglobulina. Preferentemente, la porción de cadena ligera comprende al menos uno de entre un dominio V_L o C_L.

Los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos descritos en el presente documento pueden describirse o especificarse desde el punto de vista del/ de los epítipo(s) y de la(s) parte(s) de un antígeno, por ejemplo, un polipéptido diana (Sp35) que reconocen o al que se unen específicamente. La parte de un polipéptido diana que interacciona específicamente con el dominio de unión a antígeno de un anticuerpo es un "epítipo", o un "determinante antigénico". Un polipéptido diana puede comprender un único epítipo, aunque normalmente comprende al menos dos epítopos, y puede incluir cualquier número de epítopos, dependiendo del tamaño, la conformación y el tipo de antígeno. Además, debe observarse que un "epítipo" en un polipéptido diana puede ser o incluir elementos no polipeptídicos, por ejemplo, un "epítipo puede incluir una cadena lateral de hidratos de carbono.

Se piensa que el tamaño mínimo de un epítipo de péptidos o polipéptidos para un anticuerpo es de aproximadamente cuatro a cinco aminoácidos. Los epítopos de péptidos o polipéptidos contienen preferentemente al menos siete, más preferentemente al menos nueve y con la máxima preferencia entre al menos aproximadamente 15 y aproximadamente 30 aminoácidos. Dado que una CDR puede reconocer un péptido o polipéptido antigénico en su forma terciaria, los aminoácidos que comprenden un epítipo no deben ser contiguos, y en algunos casos, pueden incluso no estar en la misma cadena de péptidos. En la presente descripción, el epítipo de péptidos o polipéptidos reconocido por los anticuerpos Sp35 de la presente descripción contiene una secuencia de al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, más preferentemente al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 25, o entre aproximadamente 15 y aproximadamente 30 aminoácidos de Sp35 contiguos o no contiguos.

Por "se une específicamente", se entiende en general que un anticuerpo se une a un epítipo por medio de su dominio de unión a antígeno, y que la unión comprende cierta complementariedad entre el dominio de unión a antígeno y el epítipo. De acuerdo con esta definición, se dice que un anticuerpo "se une específicamente" a un epítipo cuando se une a ese epítipo, por medio de su dominio de unión a antígeno más fácilmente de lo que lo haría a un epítipo aleatorio no relacionado. El término "especificidad" se usa en el presente documento para denotar la afinidad relativa según la cual un cierto anticuerpo se une a un cierto epítipo. Por ejemplo, puede considerarse que el anticuerpo "A" tiene una especificidad mayor para un epítipo dado que el anticuerpo "B", o puede decirse que el anticuerpo "A" se une al epítipo "C" con una especificidad mayor de la que tiene para el epítipo "D" relacionado.

Por "se une preferentemente", se entiende que el anticuerpo se une específicamente a un epítipo más fácilmente de lo que haría con un epítipo relacionado similar, homólogo o análogo. Así, un anticuerpo que "se une preferentemente" a un epítipo dado tendría más probabilidad de unirse a ese epítipo que a un epítipo relacionado, aun cuando dicho anticuerpo puede reaccionar de forma cruzada con el epítipo relacionado.

A modo de ejemplo no limitativo, puede considerarse que un anticuerpo se une a un primer epítipo preferentemente si se une a dicho primer epítipo con una constante de disociación (K_D) que es menor que la K_D del anticuerpo para el segundo epítipo. En otro ejemplo no limitativo, puede considerarse que un anticuerpo se une a un primer antígeno preferentemente si se une al primer epítipo con una afinidad que es al menos un orden de magnitud inferior que la K_D del anticuerpo para el segundo epítipo. En otro ejemplo no limitativo, puede considerarse que un anticuerpo se une a un primer epítipo preferentemente si se une al primer epítipo con una afinidad que es al menos dos órdenes de magnitud inferior que la K_D del anticuerpo para el segundo epítipo.

En otro ejemplo no limitativo, puede considerarse que un anticuerpo se une a un primer epítipo preferentemente si se une al primer epítipo con una constante cinética de disociación (k(off)) que es inferior que la k(off) del anticuerpo para el segundo epítipo. En otro ejemplo no limitativo, puede considerarse que un anticuerpo se une a un primer epítipo preferentemente si se une al primer epítipo con una afinidad que es al menos un orden de magnitud inferior que la k(off) del anticuerpo para el segundo epítipo. En otro ejemplo no limitativo, puede considerarse que un anticuerpo se une a un primer epítipo preferentemente si se une al primer epítipo con una afinidad que es al menos dos órdenes de magnitud inferior que la k(off) del anticuerpo para el segundo epítipo.

Puede decirse que un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado descrito en el presente documento se une a un polipéptido diana descrito en el presente documento o un fragmento o variante del mismo con una constante cinética de disociación ($k(\text{off})$) menor o igual que $5 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$, 10^{-2} s^{-1} , $5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ o 10^{-3} s^{-1} . Más preferentemente, puede decirse que un anticuerpo de la descripción se une a un polipéptido diana descrito en el presente documento o un fragmento o variante del mismo con una constante cinética de disociación ($k(\text{off})$) menor o igual que $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$, 10^{-4} s^{-1} , $5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, o 10^{-5} s^{-1} , $5 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$, 10^{-6} s^{-1} , $5 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ o 10^{-7} s^{-1} .

Puede decirse que un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado descrito en el presente documento se une a un polipéptido diana descrito en el presente documento o un fragmento o variante del mismo con una constante cinética de asociación ($k(\text{on})$) mayor o igual que $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ o $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Más preferentemente, puede decirse que un anticuerpo de la descripción se une a un polipéptido diana descrito en el presente documento o un fragmento o variante del mismo con una constante cinética de asociación ($k(\text{on})$) mayor o igual que $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, o $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ o $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

Se dice que un anticuerpo inhibe competitivamente la unión de un anticuerpo de referencia a un epítipo dado si se une preferentemente a ese epítipo hasta el punto de que bloquea, en cierto grado, la unión del anticuerpo de referencia con el epítipo. La inhibición competitiva puede determinarse mediante cualquier procedimiento conocido en la técnica, por ejemplo, ensayos de competición ELISA. Puede decirse que un anticuerpo inhibe competitivamente la unión del anticuerpo de referencia a un epítipo dado en al menos el 90 %, con al menos el 80 %, al menos el 70 %, al menos el 60 % o al menos el 50 %.

Tal como se usa en el presente documento, el término "afinidad" hace referencia a una medida de la fuerza de la unión de un epítipo individual con la CDR de una molécula de inmunoglobulina. Véase, por ejemplo, Harlow *et al.*, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2ª ed. 1988) en las páginas 27-28. Tal como se usa en el presente documento, el término "avidez" hace referencia a la estabilidad global del complejo entre una población de inmunoglobulinas y un antígeno, es decir, la fuerza de combinación funcional de una mezcla de inmunoglobulinas con el antígeno. Véase, por ejemplo, Harlow en las páginas 29-34. La avidez está relacionada con la afinidad de moléculas de inmunoglobulina individuales en la población con epítipos específicos, y también las valencias de las inmunoglobulinas y el antígeno. Por ejemplo, la interacción entre un anticuerpo monoclonal bivalente y un antígeno con una estructura de epítipo con alta repetición, tal como un polímero, tendría una alta avidez.

Los anticuerpos Sp35 o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos también pueden describirse o especificarse desde el punto de vista de su reactividad cruzada. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "reactividad cruzada" hace referencia a la capacidad de un anticuerpo, específico para un antígeno, de reaccionar con un segundo antígeno; una medida de la relación entre dos sustancias antigénicas diferentes. Así, un anticuerpo tiene reactividad cruzada si se une a un epítipo distinto de aquel que indujo su formación. El epítipo con reactividad cruzada contiene generalmente muchas de las mismas características estructurales complementarias que el epítipo inductor, y en algunos casos, en realidad puede ajustarse mejor que el original.

Por ejemplo, ciertos anticuerpos tienen algún grado de reactividad cruzada, dado que se unen a epítipos relacionados pero no idénticos, por ejemplo, epítipos con al menos el 95 %, al menos el 90 %, al menos el 85 %, con al menos el 80 %, al menos el 75 %, al menos el 70 %, al menos el 65 %, al menos el 60 %, al menos el 55 %, y al menos el 50 % de identidad (calculado usando procedimientos conocidos en la técnica y descritos en el presente documento) con un epítipo de referencia. Puede decirse que un anticuerpo tiene una reactividad cruzada baja o nula si no se une a epítipos con menos del 95 %, menos del 90 %, menos del 85 %, menos del 80 %, menos del 75 %, menos del 70 %, menos del 65 %, menos del 60 %, menos del 55 % y menos del 50 % de identidad (calculado usando procedimientos conocidos en la técnica y descritos en el presente documento) con un epítipo de referencia. Un anticuerpo puede considerarse "altamente específico" para un cierto epítipo si no se une a ningún otro análogo, ortólogo u homólogo de ese epítipo.

Los anticuerpos Sp35 o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos pueden describirse o especificarse también desde el punto de vista de su afinidad de unión a un polipéptido. Las afinidades de unión preferentes incluyen aquellas con una constante de disociación o K_d inferior a $5 \times 10^{-2} \text{ M}$, 10^{-2} M , $5 \times 10^{-3} \text{ M}$, 10^{-3} M , $5 \times 10^{-4} \text{ M}$, 10^{-4} M , $5 \times 10^{-5} \text{ M}$, 10^{-5} M , $5 \times 10^{-6} \text{ M}$, 10^{-6} M , $5 \times 10^{-7} \text{ M}$, 10^{-7} M , $5 \times 10^{-8} \text{ M}$, 10^{-8} M , $5 \times 10^{-9} \text{ M}$, 10^{-9} M , $5 \times 10^{-10} \text{ M}$, 10^{-10} M , $5 \times 10^{-11} \text{ M}$, 10^{-11} M , $5 \times 10^{-12} \text{ M}$, 10^{-12} M , $5 \times 10^{-13} \text{ M}$, 10^{-13} M , $5 \times 10^{-14} \text{ M}$, 10^{-14} M , $5 \times 10^{-15} \text{ M}$ o 10^{-15} M .

Los anticuerpos Sp35 o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos pueden ser

"multiespecíficos", por ejemplo, biespecíficos, triespecíficos o de mayor multiespecificidad, lo que significa que reconoce y se une a dos o más epítomos diferentes presentes en uno o más antígenos diferentes (por ejemplo, proteínas) al mismo tiempo. Así, si un anticuerpo Sp35 es "monoespecífico" o "multiespecífico", por ejemplo, "biespecífico", hace referencia al número de diferentes epítomos con los que reacciona un polipéptido de unión. Los anticuerpos multiespecíficos pueden ser específicos para diferentes epítomos de un polipéptido diana descritos en el presente documento o pueden ser específicos para un polipéptido diana, así como para un epítomo heterólogo, tal como un polipéptido heterólogo o material de soporte sólido.

Tal como se usa en el presente documento el término "valencia" hace referencia al número de dominios de unión potenciales, por ejemplo, dominios de unión a antígeno, presentes en un anticuerpo Sp35, polipéptido de unión o anticuerpo. Cada dominio de unión se une específicamente a un epítomo. Cuando un anticuerpo Sp35, polipéptido de unión o anticuerpo comprende más de un dominio de unión, cada dominio de unión puede unirse específicamente al mismo epítomo, para un anticuerpo con dos dominios de unión, denominado "monoespecífico bivalente", o a diferentes epítomos, para un anticuerpo con dos dominios de unión, denominado "biespecífico bivalente". Un anticuerpo puede ser también biespecífico y bivalente para cada especificidad (denominados "anticuerpos biespecíficos tetraivalentes"). En otro caso, pueden prepararse anticuerpos tetraivalentes o anticuerpos con supresión de dominios.

Los anticuerpos biespecíficos bivalentes, y los procedimientos para prepararlos, se describen, por ejemplo, en las patentes de EE. UU. nº 5.731.168; 5.807.706; 5.821.333; y las publicaciones de solicitudes de EE. UU. nº 2003/020.734 y 2002/0155.537. Los anticuerpos biespecíficos tetraivalentes, y los procedimientos para prepararlos se describen, por ejemplo, en los documentos WO-02/096948 y WO-00/44788. Véanse en general las publicaciones PCT WO-93/17715; WO-92/08802; WO-91/00360; WO-92/05793; Tutt *et al.*, *J. Immunol.* 147:60-69 (1991); las patentes de EE. UU. nº 4.474.893; 4.714.681; 4.925.648; 5.573.920; 5.601.819; Kostelny *et al.*, *J. Immunol.* 148:1547-1553 (1992).

Tal como se indica anteriormente, las estructuras de subunidades y la configuración tridimensional de las regiones constantes de las diversas clases de inmunoglobulinas son bien conocidas. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "dominio V_H" incluye el dominio variable en el extremo amino de una cadena pesada de inmunoglobulina y la expresión "dominio C_{H1}" incluye el primer dominio de región constante (el situado más en el extremo amino) de una cadena pesada de inmunoglobulina. El dominio C_{H1} es adyacente al dominio V_H y está en el extremo amino en la región bisagra de una molécula de cadena pesada de inmunoglobulina.

Tal como se usa en el presente documento la expresión "dominio C_{H2}" incluye la parte de una molécula de cadena pesada que se extiende, por ejemplo, desde aproximadamente el residuo 244 al residuo 360 de un anticuerpo usando esquemas de numeración convencionales (residuos 244 a 360, sistema de numeración de Kabat; y residuos 231-340, sistema de numeración EU; véase Kabat EA *et al. op. cit.* El dominio C_{H2} es único en el sentido de que no está emparejado estrechamente con otro dominio. Al contrario, cadenas de hidratos de carbono ramificadas unidas en N se interponen entre los dos dominios C_{H2} de una molécula de IgG nativa intacta. También está bien documentado que el dominio C_{H3} se extiende desde el dominio C_{H2} al extremo C de la molécula de IgG y comprende aproximadamente 108 residuos.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "región bisagra" incluye la porción de una molécula de cadena pesada que une el dominio C_{H1} con el dominio C_{H2}. Esta región bisagra comprende aproximadamente 25 residuos y es flexible, permitiendo así que las dos regiones de unión a antígeno en el extremo N se muevan independientemente. Las regiones bisagra pueden subdividirse en tres dominios distintos: dominios de bisagra superior, medio e inferior (Roux *et al.*, *J. Immunol.* 161:4083 (1998)).

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "enlace disulfuro" incluye el enlace covalente formado entre dos átomos de azufre. El aminoácido cisteína comprende un grupo tiol que puede formar un enlace disulfuro o puente con un segundo grupo tiol. En la mayoría de las moléculas de IgG presentes en la naturaleza, las regiones C_{H1} y C_L están unidas por un enlace disulfuro y las dos cadenas pesadas están unidas por dos enlaces disulfuro en posiciones correspondientes a 239 y 242 usando el sistema de numeración de Kabat (posición 226 o 229, sistema de numeración EU).

Tal como se usa en el presente documento, se entenderá que la expresión "anticuerpo quimérico" significa cualquier anticuerpo donde la región o sitio inmunorreactivo se obtiene o se deriva de una primera especie y la región constante (que puede estar intacta, ser parcial o estar modificada de acuerdo con la presente descripción) se obtiene de una segunda especie. En casos preferentes la región o sitio de unión diana procederá de una fuente no humana (por ejemplo, ratón o primate) y la región constante es humana.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "anticuerpo diseñado" hace referencia a un anticuerpo en el que el dominio variable en la cadena pesada y ligera o las dos está alterado al menos por la sustitución parcial de una o más CDR con respecto a un anticuerpo de especificidad conocida y, si fuera necesario, por una sustitución parcial de la región marco y un cambio de secuencia. Aunque las CDR pueden derivarse de un anticuerpo de la misma clase o incluso subclase que el anticuerpo del cual se derivan las regiones marco, se contempla que las CDR se derivarán de un anticuerpo de diferente clase y preferentemente de un anticuerpo de una especie diferente. Un anticuerpo diseñado en el que se injertan una o más CDR "donantes" de un anticuerpo no humano de especificidad conocida en una región marco de cadena pesada o ligera humana se refiere en el presente documento como un "anticuerpo humanizado". Puede no ser necesario sustituir todas las CDR con las CDR completas de la región variable donante para transferir la capacidad de unión a antígeno de un dominio variable a otro. Al contrario, puede ser necesario solo transferir aquellos residuos que son necesarios para mantener la actividad del sitio de unión diana. Dadas las explicaciones expuestas, por ejemplo, en las patentes de EE. UU. n° 5.585.089, 5.693.761, 5.693.762 y 6.180.370, se estará claramente dentro de la competencia de los expertos en la materia, ya sea al efectuar experimentación de rutina o aplicando prueba y error para obtener un anticuerpo humanizado o diseñado funcional.

Tal como se usa en el presente documento la expresión "polipéptido plegado adecuadamente" incluye polipéptidos (por ejemplo, anticuerpos Sp35) en los que todos los dominios funcionales que comprenden el polipéptido están activos de forma distintiva. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "polipéptido plegado inadecuadamente" incluye polipéptidos en los que al menos uno de los dominios funcionales del polipéptido no está activo. En un caso, un polipéptido plegado adecuadamente comprende cadenas de polipéptidos unidas por al menos un enlace disulfuro y, por el contrario, un polipéptido plegado inadecuadamente comprende cadenas de polipéptidos no unidas por al menos un enlace disulfuro.

Tal como se usa en el presente documento el término "diseñado" incluye la manipulación de moléculas de ácidos nucleicos o polipéptidos por medios sintéticos (por ejemplo, por técnicas recombinantes, síntesis de péptidos *in vitro*, por acoplamiento enzimático o químico de péptidos o alguna combinación de estas técnicas).

Tal como se usa en el presente documento, los términos "unido", "fusionado" o "fusión" se usan indistintamente. Estos términos se refieren a la unión entre sí de dos más elementos o componentes, por cualquier medio incluyendo conjugación química o medios recombinantes. Una "fusión en marco" hace referencia a la unión de dos o más marcos de lectura abiertos (ORF) de polinucleótidos para formar un ORF más largo continuo, de una manera que mantiene el marco de lectura traduccional correcto de los ORF originales. Así, una proteína de fusión recombinante es una única proteína que contiene dos o más segmentos que corresponden a polipéptidos codificados por los ORF originales (segmentos que normalmente no están así unidos en la naturaleza). Aunque el marco de lectura se hace así continuo en todos los segmentos fusionados, los segmentos pueden estar separados de forma física o espacial, por ejemplo, por una secuencia conectora en marco. Por ejemplo, los polinucleótidos que codifican las CDR de una región variable de inmunoglobulina pueden estar fusionadas, en marco, pero separadas por un polinucleótido que codifica al menos una región marco de inmunoglobulina o regiones CDR adicionales, en la medida en que las CDR "fusionadas" están cotraducidas como parte de un polipéptido continuo.

En el contexto de polipéptidos, una "secuencia lineal" o una "secuencia" es un orden de aminoácidos en un polipéptido en una dirección del extremo amino a carboxilo en el que los residuos que son adyacentes entre sí en la secuencia son contiguos en la estructura primaria del polipéptido.

El término "expresión" tal como se usa en el presente documento hace referencia a un procedimiento por el que un gen produce un producto bioquímico, por ejemplo, un ARN o polipéptido. El procedimiento incluye cualquier manifestación de la presencia funcional del gen dentro de la célula que incluye, sin limitación, inactivación génica, así como expresión transitoria y expresión estable. Incluye sin limitación la transcripción del gen en ARN mensajero (ARNm), ARN de transferencia (ARNt), ARN en horquilla pequeño (shRNA), ARN de interferencia pequeño (siRNA) o cualquier otro producto de ARN, y la traducción de dicho ARNm en polipéptido(s). Si el producto deseado final es un producto bioquímico, la expresión incluye la creación de ese producto bioquímico y cualquier precursor. La expresión de un gen produce un "producto génico". Tal como se usa en el presente documento, un producto génico puede ser un ácido nucleico, por ejemplo, un ARN mensajero producido por transcripción de un gen, o un polipéptido que es traducido a partir de una transcripción. Los productos génicos descritos en el presente documento incluyen además ácidos nucleicos con modificaciones postranscripcionales, por ejemplo, poliadenilación, o polipéptidos con modificaciones postraduccionales, por ejemplo, metilación, glucosilación, la adición de lípidos, asociación con otras subunidades de proteínas, escisión proteolítica, y similares.

60

Tal como se usa en el presente documento, los términos "tratar" o "tratamiento" se refieren a tratamiento terapéutico y a medidas profilácticas o preventivas, donde el objeto es prevenir o ralentizar (aminorar) un trastorno o cambio fisiológico no deseado, tal como la progresión de esclerosis múltiple. Los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero no se limitan a, alivio de los síntomas, disminución de la extensión de la enfermedad, estado estabilizado (es decir, sin empeoramiento) de la enfermedad, retraso o ralentización de la progresión de la enfermedad, mejoría o paliación del estado patológico y remisión (parcial o total), ya sea detectable o indetectable. "Tratamiento" puede significar también la prolongación de la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. Las personas que necesitan el tratamiento incluyen aquellas que ya tienen la afección o trastorno, así como las propensas a tener la afección o trastorno o aquellas en las que la afección o trastorno debe prevenirse.

Por "sujeto" o "individuo" o "animal" o "paciente" o "mamífero", se entiende cualquier sujeto, en particular un sujeto mamífero, para el cual se desea el diagnóstico, el pronóstico o la terapia. Los sujetos mamíferos incluyen seres humanos, animales domésticos, animales de granja y animales de zoológicos, de deportes o de compañía tales como perros, gatos, cobayas, conejos, ratas, ratones, caballos, ganado, vacas, y así sucesivamente.

Tal como se usa en el presente documento, frases tales como "un sujeto que se beneficiaría de la administración de un anticuerpo Sp35" y "un animal que necesita el tratamiento" incluye sujetos, tales como sujetos mamíferos, que se beneficiarían de la administración de un anticuerpo Sp35 usado, por ejemplo, para la detección de un polipéptido Sp35 (por ejemplo, para un procedimiento diagnóstico) y/o del tratamiento, es decir, la paliación o prevención de una enfermedad tal como EM, con un anticuerpo Sp35. Tal como se describe en mayor detalle en el presente documento, el anticuerpo Sp35 puede usarse en forma no conjugada o puede conjugarse, por ejemplo, con un fármaco, profármaco o un isótopo.

25 II. Sp35

El Sp35 humano presente en la naturaleza (Sp35) es una proteína glucosilada específica del sistema nervioso central que según la predicción tiene 614 aminoácidos (SEQ ID NO: 2), lo que incluye una secuencia señal de 33 aminoácidos. Sp35 es conocido también en la técnica con los nombres de LINGO-1, LRRN6, LRRN6A, FLJ14594, LERN1, MGC17422 y UNQ201. El polipéptido Sp35 humano de longitud completa de tipo natural contiene un dominio LRR que consiste en 14 repeticiones ricas en leucina (que incluye caperuzas en los extremos N y C), un dominio Ig, una región de transmembrana y un dominio citoplásmico. El dominio citoplásmico contiene un sitio de fosforilación de tirosina canónico. Además, la proteína Sp35 presente en la naturaleza contiene una secuencia señal, una región básica corta entre el dominio LRRCT e Ig, y una región de transmembrana entre el dominio Ig y el dominio citoplásmico. El gen Sp35 humano (SEQ ID NO: 1) contiene codones de inicio de traducción alternativos, de manera que seis aminoácidos adicionales, es decir, MQVSKR (SEQ ID NO: 3) pueden estar o no presentes en el extremo N de la secuencia señal Sp35. La tabla 2 recibe los dominios Sp35 y otras regiones, de acuerdo con el número de residuo de aminoácido, basándose en la secuencia de aminoácidos Sp35 presentada en el presente documento como SEQ ID NO: 2. El polipéptido Sp35 se caracteriza en mayor detalle en la publicación PCT n° WO-2004/085648.

TABLA 2. Dominios Sp35

Dominio o región	Residuo de inicio	Residuo de fin
Secuencia señal	1	33 o 35
LRRNT	34 o 36	64
LRR	66	89
LRR	90	113
LRR	114	137
LRR	138	161
LRR	162	185
LRR	186	209
LRR	210	233
LRR	234	257
LRR	258	281
LRR	282	305
LRR	306	329
LRR	330	353
LRRCT	363	414 o 416
Básico	415 o 417	424

Ig	419	493
Secuencia de conexión	494	551
Transmembrana	552	576
Citoplásmico	577	614

La distribución de tejidos y la expresión de desarrollo de Sp35 se ha estudiado en seres humanos y ratas. La biología de Sp35 se ha estudiado en un modelo de animal experimental (rata). La expresión de Sp35 de rata está localizada en las neuronas y los oligodendrocitos, según se determina por Northern blot y tinción
 5 inmunohistoquímica. El nivel de expresión de ARNm Sp35 de rata está regulado en forma de desarrollo, y alcanza un máximo inmediatamente después del nacimiento, es decir, aproximadamente un día posnatal. En un modelo de transección de médula espinal de rata, Sp35 se regula por aumento en el sitio de la lesión, según se determina por RT-PCR. Véase Mi *et al. Nature Neurosci.* 7:221-228 (2004).

10 En el contexto de los aminoácidos que comprenden los diversos dominios estructurales y funcionales de un polipéptido Sp35, el término "aproximadamente" incluye el valor indicado en particular y valores mayores o menores en varios aminoácidos (por ejemplo, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1). Dado que la posición de estos dominios recogidos en la tabla 1 ha sido predicha por gráficos informáticos, un experto en la materia comprendería que los residuos de aminoácidos que constituyen los dominios pueden variar ligeramente (por ejemplo, en aproximadamente 1 a 15
 15 residuos) dependiendo de los criterios usados para definir el dominio.

Los autores de la invención han descubierto que el Sp35 de longitud completa de tipo natural se une a NgR1. Véase la publicación PCT nº WO-2004/085648. Los autores de la invención han descubierto también que Sp35 se expresa en oligodendrocitos y que la proteína Sp35 interviene en la regulación de mielinización de axones mediada por
 20 oligodendrocitos. Véase la publicación de patente de EE. UU. nº 2006/0009388 A1.

La secuencia de nucleótidos para la molécula Sp35 de longitud completa es la siguiente:

```

ATGCTGGCGGGGGCGTGAGGAGCATGCCAGCCCCCTCCTGGCCTGCTGGCAGCCCATCCTCC
TGCTGGTGCTGGGCTCAGTGCTGTCAGGCTCGGCCACGGGCTGCCCGCCCCGCTGCGAGTGCTC
CGCCAGGACCGCGCTGTGCTGTGCCACCGCAAGCGCTTTGTGGCAGTCCCCGAGGGCATCCCC
ACCGAGACGCGCCTGTGACCTAGGCAAGAACCGCATCAAAAAGCTCAACCAGGACGAGTTCG
CCAGCTTCCCGCACCTGGAGGAGCTGGAGCTCAACGAGAACATCGTGAGCGCCGTGGAGCCCGG
CGCCTTCAACAACCTCTTCAACCTCCGGACGCTGGGTCTCCGCAGCAACCGCCTGAAGCTCATC
CCGCTAGGCGTCTTCACTGGCCTCAGCAACCTGACCAAGCTGGACATCAGCGAGAACAAGATTG
TTATCCTGCTGGACTACATGTTTCAGGACCTGTACAACCTCAAGTCACTGGAGGTTGGCGACAA
TGACCTCGTCTACATCTCTACCGCGCCTTCAGCGGCCTCAACAGCCTGGAGCAGCTGACGCTG
GAGAAATGCAACCTGACCTCCATCCCCACCGAGGCGCTGTCCCACCTGCACGGCCTCATCGTCC
TGAGGCTCCGGCACCTCAACATCAATGCCATCCGGGACTACTCCTTCAAGAGGCTCTACCGACT
CAAGGTCTTGAGATCTCCCACTGGCCCTACTTGGACACCATGACACCCAACTGCCTCTACGGC
CTCAACCTGACGTCCCTGTCCATCACACACTGCAATCTGACCGCTGTGCCCTACCTGGCCGTCC
GCCACCTAGTCTATCTCCGCTTCCCTCAACCTCTCCTACAACCCCATCAGCACCATTGAGGGCTC
CATGTTGCATGAGCTGCTCCGGCTGCAGGAGATCCAGCTGGTGGGCGGGCAGCTGGCCGTGGTG
GAGCCCTATGCCTTCCGCGGCCTCAACTACCTGCGCGTGCTCAATGTCTCTGGCAACCAGCTGA
CCACACTGGAGGAATCAGTCTTCCACTCGGTGGGCAACCTGGAGACACTCATCCTGGACTCCAA
CCCCGCTGGCCTGCGACTGTCCGCTCCTGTGGGTGTTCCGGCGCCGCTGGCGGCTCAACTTCAAC
CGGCAGCAGCCCCAGTGCGCCACGCCCGAGTTTGTCCAGGGCAAGGAGTTCAAGGACTTCCCTG
ATGTGCTACTGCCCAACTACTTACCTGCCGCGCGCCCGCATCCGGGACCGCAAGGCCAGCA
GGTGTTTGTGGACGAGGGCCACACGGTGCAGTTTGTGTGCCGGCCGATGGCGACCCGCCGCC
GCCATCCTCTGGCTCTCACCCCGAAAGCACCTGGTCTCAGCCAAGAGCAATGGGCGGCTCACAG
TCTTCCCTGATGGCACGCTGGAGGTGCGCTACGCCAGGTACAGGACAACGGCACGTACCTGTG
CATCGCGGCCAACGCGGGCGGCAACGACTCCATGCCCGCCACCTGCATGTGCGCAGCTACTCG
CCCGACTGGCCCCATCAGCCCAACAAGACCTTCCGTTTTCATCTCCAACCAGCCGGGCGAGGGAG
AGGCCAACAGCACCCGCGCCACTGTGCCTTTCCCTTCGACATCAAGACCCCTCATCATCGCCAC
CACCATGGGCTTCATCTCTTCCCTGGGCGTGCCTCTTCTGCCTGGTGTGCTGTTTCTCTGG
AGCCGGGGCAAGGGCAACACAAAGCACAAACATCGAGATCGAGTATGTGCCCGAAAGTCGGACG
CAGGCATCAGCTCCGCCGACGCGCCCCGCAAGTTCAACATGAAGATGATATGA (SEQ ID
NO:1).
    
```

La secuencia polipeptídica para el polipéptido Sp35 de longitud completa es la siguiente:

MLAGGVRSMPSPLLACWQPIILLVLSVLSGSATGCPPRCECSAQDRAVLCHRKRFFVAVPEGIP
 TETRLLDLGNRIKTLNQDEFASFPHEEELELNENIVSAVEPGAFNNLFLNRLTLGLRSNRLKLI
 PLGVFTGLSNLTKLDISENKIVILLDYMFQDLYNLKSLEVGDNDLVYISHRAFSGLNSLEQLTL
 EKCNLTSIPTREALSHLHGLIVLRLRHLNINAIRDYSFKRLYRLKVLKVEISHWPYLDTMTPNCLYG
 LNLTSLSITHCNLTAVPYLAVRHLVYLRFLNLSYNPISTIEGSMHELLRLQEIQLVGGQLAVV
 EPYAFRGLNLYLRVLNVSGNQLTTLEESVFHVSNGLETILDSNPLACDCRLLWVFRRRWRLNFN
 RQOPTCATPEFVQKQKDFPDVLLPNYFTCRRARIRDRKAQQVFVDEGHTVQFVCRADGDP
 PPAIWLSPRKHLSAKSNGRLTVFPDGTLEVRYAQVDNGTYLCAANAGGNDSPPAHLHVRYSY
 PDWPHQPNKTFAFISNQPGEGEANSTRATVFPFPDIKTLIATTMGFI SFLGVVLFCLVLLFLW
 SRGKGNTKHNIEIEYVPRKSDAGISSADAPRKFNMKMI (SEQ ID NO:2).

5

III. ANTICUERPOS Sp35

En un caso, la presente descripción se dirige a anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos. Por ejemplo, la presente descripción incluye al menos los dominios de unión a antígeno de ciertos anticuerpos monoclonales, y fragmentos, variantes, y derivados de los mismos mostrados en las tablas 3A a 3E.

La tabla 3A describe las regiones del polipéptido Sp35 que están unidas por ciertos anticuerpos derivados de bibliotecas de fagos de longitud completa. Estos anticuerpos tienen las mismas regiones variables que los fragmentos Fab derivados de la Biblioteca de Presentación de Fagos-1, tal como se indica en la tabla 3B (por ejemplo, D05 en la tabla 3A tiene la misma región variable que Li05 en la tabla 3B, D06 en la tabla 3A tiene la misma región variable que Li06 en la tabla 3B, etc.). Los anticuerpos se sometieron a ensayo para determinar la unión a fragmentos de Sp35 tal como se define en la tabla 3A, usando procedimientos bien conocidos en la técnica.

Las tablas 3B-3E describen la capacidad de los anticuerpos monoclonales o fragmentos Fab denominados para detectar Sp35 en diversos ensayos tales como: clasificación celular activada por fluorescencia (FACS), Inmunoprecipitación (IP), análisis por la técnica Western blot, Inmunohistoquímica (IHC) y ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). Los protocolos detallados para realizar estos ensayos se describen en el presente documento o son bien conocidos y entendidos por los expertos en la materia. Los anticuerpos monoclonales derivados de hibridomas recogidos en las tablas 3B y 3C fueron producidos por inyección de Sp35 soluble en ratones y después aislados usando tecnología de hibridomas que es bien conocida en la técnica y se describe en el presente documento. Los anticuerpos monoclonales y los fragmentos Fab de anticuerpos recogidos en la tabla 3B fueron aislados a partir de dos bibliotecas de presentación de fagos diferentes usando técnicas conocidas en la técnica.

30

TABLA 3A

Fragmento Sp35	D03 (región variable Li03)	D05 (región variable Li05)	D06 (región variable Li06)	D08 (región variable Li08)	D11 (región variable Li03)	D13 (región variable Li13)	D33 (región variable Li33)
Fc rata 1-432	+	+	+	-	+	-	+
Fc rata 417-093	-	+/-	+/-	-	-	-	-
AP-Sp35 (1-419)	N/D	+	-/+	-/+	N/D	N/D	N/D
AP-Sp35 (418-498)	N/D	-	-	-	N/D	N/D	N/D
Fc humano 417-498	-	-	-	-	-	-	-
Fc humano 417-503	-	-	-	-	-	-	-
Fc humano 363-498	-	-	-	-	-	-	-
Fc humano 244-498	-	-	-	-	-	-	-

TABLA 3B - SP35 ANTICUERPOS MONOCLONALES
 ANTICUERPOS MONOCLONALES DERIVADOS DE HIBRIDOMA

	FACs		Inmunoprecipitación			Western	
	huSp35	mSp35	sp35Fc	huSp35	mSp35	huSp35	ratón/rata sp35
201'				sí		sí	No (ratón y rata)

ES 2 673 153 T3

3A3	-	-	+	-	-	no	No (ratón y rata)
3A6	++	+/-	++	+++	-/+	no	No (ratón y rata)
1A7	++	-	++	+++	-/+	no	No (ratón y rata)
1G7	++	+/-	++	+++	+	no	No (ratón y rata)
2B10	++	+/-	+	+++	-/+	no	No (ratón y rata)
2C11	-	-	-	-	-	no	No (ratón y rata)
2F3	+/-	+/-		+++	+++	sí	sí con mSp35 sobreexpresado
3P1B1.1F9				+++	-		
3P1D10.2C3				+++	-		
3P1E11.3B7				+++	-		
3P2C6. 3G10.2H7				+++	-		
3P2C9.2G4				+++	-		
3P4A6.1D9				+++	-		
3P4A1.2B9				+++	-		
3P4C2.2D2				+++	+++		
3P4C5.1D8				+++	-		
3P4C8.2G9				+++	+++	sí	Sí (ratón)
7P1D5.1G9 (ATCC: PTA-8107)	+	+		+++	+++	no	No (ratón)
1B6.4	+++	+++		+++ (banda superior)	+++ (banda inferior)	no	No (ratón)
2C7.2	+++	+++		+++ (banda superior)	+++ (banda inferior)	no	No (ratón)
2D6.1	++ (se une a células 293)	++ (se une a células 293)		-	-	no	No (ratón)
2F7.3	++	++		+++ (banda inferior)	+++ (banda inferior)	sí	Sí (ratón)
2H3.2	++	++		+++ (banda inferior)	+++ (banda inferior)	sí	Sí (ratón)
3C11.1	++	++		+++ (banda inferior)	+++ (banda inferior)	sí	Sí (ratón)
3E3.1	+++	+++		+++ (banda superior)	+++ (banda inferior)	no	No (ratón)
3H11.2	++	++		+++ (banda inferior)	+++ (banda inferior)	sí	Sí (ratón)
3G8.1	+	+		+++ (banda superior)	+++	no	No (ratón)
2B8.1	++	++		+++ (banda superior)	+ (banda inferior)	no	No (ratón)
3B5.2 (ATCC: PTA-8106)	+++	+++		+++ (banda superior)	+++	no	No (ratón)

TABLA 3B - Sp35 ANTICUERPOS MONOCLONALES (continuación)

	IHC en células transfectadas		IHC en tejidos		ELISA				
	huSp35	mSp35	WT (parafina)	KO (parafina)	34-417	417-493	419-495	1-532	34-532
201'	N/A	N/A	sí	sí					
3A3	no	no			sí			sí	
3A6	sí con fondo	no							
1A7	sí con fondo	no					+/-	sí	sí
1G7	sí con fondo	no							
2B10	sí con fondo	no			sí			sí	
2C11	no	no							
2F3	sí	sí	sí	sí	sí			sí	
3P1B1.1F9									
3P1D10.2C3							+/-	sí	sí
3P1E11.3B7							+/-	sí	sí
3P2C6. 3G10.2H7							+/-	sí	sí
3P2C9.2G4							+/-	sí	sí
3P4A6.1D9							+/-	sí	sí
3P4A1.2B9									
3P4C2.2D2					sí			sí	
3P4C5.1D8							+/-	sí	sí
3P4C8.2G9					sí			sí	
7P1D5.1G9									
(ATCC: PTA-8107)									
1B6.4									
2C7.2									
2D6.1									
2F7.3									
2H3.2									
3C11.1									
3E3.1									
3H11.2									
3G8.1									
2B8.1									
3B5.2 (ATCC: PTA-8106)									

TABLA 3B - Sp35 ANTICUERPOS MONOCLONALES (continuación)

FRAGMENTOS Fab MONOCLONALES DERIVADOS DE BIBLIOTECA DE PRESENTACIÓN DE FAGOS-1

	FACs		Inmunoprecipitación			Western	
	huSp35	mSp35	sp35Fc	huSp35	mSp35	huSp35	Ratón/rata sp35
30-C12 (Li01)				++	++		
38-D01 (Li02)				-/+	-/+		
35-E04 (Li03)				++	+++		
36-C09 (Li04)				-/+	-/+		
30-A11 (Li05)	+		++	++	++		
34-F02 (Li06)				++	++		
29-E07 (Li07)				++	++		
34-G04 (Li08)	+/-		+	++	++		
36-A12 (Li09)				-	-		
28-D02 (Li10)				-/+	+/-		
30-B01 (Li11)	++			++	++		
34-B03 (Li12)				+	+		

5 TABLA 3B - Sp35 ANTICUERPOS MONOCLONALES (continuación)
FRAGMENTOS Fab MONOCLONALES DERIVADOS DE BIBLIOTECA DE PRESENTACIÓN DE FAGOS-1

	IHC en células transfectadas		IHC en tejidos		ELISA				
	huSp35	mSp35	WT (parafina)	KO (parafina)	34-417	417-493	419-495	1-532	34-532
30-C12 (Li01)									
38-D01 (Li02)									
35-E04 (Li03)									
36-C09 (Li04)									
30-A11 (Li05)									
34-F02 (Li06)									
29-E07 (Li07)									
34-G04 (Li08)									
36-A12 (Li09)									
28-D02 (Li10)									
30-B01(Li11)									
34-B03 (Li12)									

5 TABLA 3B - Sp35 ANTICUERPOS MONOCLONALES (continuación)
FRAGMENTOS Fab MONOCLONALES DERIVADOS DE BIBLIOTECA DE PRESENTACIÓN DE FAGOS-2

	FACs		Inmunoprecipitación			Western	
	huSp35	mSp35	sp35Fc	huSp35	mSp35	huSp35	Ratón/rata sp35
3383 (1)	+	-					
3495(2)	+	-				sí	no
3563 (3)	+						
3564 (4)	+						
3565 (5)	+						
3566 (6)	+						
3567 (7)	+						
3568 (8)	+						
3569 (9)	+						
3570 (10)	+						
3571 (11)	+						
3582 (12)	+						
1968 (13)	+/-	-		++		débil	no
3011	-			+/-			
3012	-			-			
3013	adherente			+			
3418	adherente						
3422	-						
3562	adherente						

TABLA 3B - Sp35 ANTICUERPOS MONOCLONALES (continuación)
FRAGMENTOS Fab MONOCLONALES DERIVADOS DE BIBLIOTECA DE PRESENTACIÓN DE FAGOS-2

	IHC en células transfectadas		IHC en tejidos		ELISA				
	huSp35	mSp35	WT (parafina)	KO (parafina)	34-417	417-493	419-495	1-532	34-532
3383 (1)	N/A	N/A	sí	sí	sí			sí	
3495 (2)	débil	N/A	sí	sí			+/-	sí	sí
3563 (3)	no	no			sí			sí	
3564 (4)	no	no			sí			sí	
3565 (5)	no	no			sí			sí	
3566 (6)	sí	muy débil	sí	sí			+/-	sí	sí
3567 (7)	sí	no	sí	sí			+/-	sí	sí
3568 (8)	no	no			sí			sí	
3569 (9)	no	no			sí			sí	
3570 (10)	no	no			sí			sí	
3571 (11)	no	no							

3582 (12)	no	no			sí			sí	
1968 (13)	muy débil	sí con fondo	sí	sí			+/-	sí	sí
3011	solo tinción de muy pocas células	débil							
3012	no	no							
3013	sí con fondo alto	sí							
3418	sí con fondo alto	sí							
3422	muy débil	sí con fondo alto							
3562	no	no							

TABLA 3B - Sp35 ANTICUERPOS MONOCLONALES (continuación)
ANTICUERPOS MONOCLONALES COMPLETOS DERIVADOS DE BIBLIOTECA DE PRESENTACIÓN DE FAGOS-1

	FACs		Inmunoprecipitación			Western	
	huSp35	mSp35	sp35Fc	huSp35	mSp35	huSp35	Ratón/rata sp35
D05	++						
D07	+++						
D08	++						
D10	+++						
D11	+++						

5

ANTICUERPOS MONOCLONALES COMPLETOS DERIVADOS DE BIBLIOTECA DE PRESENTACIÓN DE FAGOS-1

	IHC en células transfectadas		IHC en tejidos		ELISA				
	huSp35	mSp35	WT (parafina)	KO (parafina)	34-417	417-493	419-495	1-532	34-532
D05									
D07									
D08									
D10									
D11									

Leyenda:
 huSp35 = proteína Sp35 humana
 mSp35 = proteína Sp35 murina
 WT = tipo natural
 KO = inactivado
 IHC = inmunohistoquímica
 FACS = clasificación de células activada por fluorescencia

TABLA 3C - ANTICUERPOS MONOCLONALES Sp35 DERIVADOS DE HIBRIDOMA

Anticuerpo	Especie	Subtipo	ELISA			FACS			IP			Homogeneizado de encéfalo de rata
			HLINGO-1	LRR	Ig	mLINGO1	hLINGO-1	mLINGO-1	hLINGO-1	mLINGO-1	hLINGO-1	
3B5.2 (ATCC: PTA-8106)	murina		+++	+	-	+++		+++	+++	+++		
7P1D5.1G9 (ATCC: PTA-8107)	murina	IgG1/kappa	+			+		+		+++		
			++	+	-	+++	-	+++		+++		sí

TABLA 3D

Anticuerpo	Especie	Subtipo		ELISA				
				hLINGO-1	LRR	Ig	mLINGO1	hLINGO-2
1A7	murina	IgG1/kappa	Fab	+			+/-	
			AMc	+++	-	-	+/-	-
2F3	murina	IgG2a	Fab					
			AMc	++	++	-	++	+/-
3P1D10.2C3	murina	IgG1	AMc	+++	-	-	-	
3P1E11.3B7	murina	IgG1	AMc	+++	-	-	-	
6P4F4.1D3	murina	IgG1/kappa	AMc	+++	+++	-	+++	-
6P4F4.1F9	murina	IgG1/kappa	AMc	+++	+++	-	+++	-
7P1D5.1G9 (ATCC PTA-8107)	murina	IgG1/kappa	Fab	+			+	
			AMc	++	+	-	+++	-
1B6.4	murina	IgG1/kappa	AMc	+++	++	-	+++	-
2C7.2	murina	IgG1/kappa	AMc	+++	++	-	+++	+
2D6.1	murina	IgG1/kappa	AMc	-	-	-	-	-
2F7.3	murina	IgG1/kappa	AMc	+++	-	-	+++	-
2H3.2	murina	IgG1/kappa	AMc	+++	-	-	+++	-
3C11.1	murina	IgG1/kappa	AMc	+++	-	-	+++	-
3E3.1	murina	IgG1/kappa	AMc	+++	++	-	+++	-
3H11.2	murina	IgG1/kappa	AMc	+++	-	-	+++	-
3G8.1	murina		AMc	+++	++	-	+++	-
2B8.1	murina		AMc	+++	++	-	+++	-
3B5.2 (ATCC: PTA-8106)	murina	IgG1/kappa	AMc	+++	+	-	+++	-
3P3C10.2	murina		AMc	+++	+	-	+++	-
3P4F4.6	murina		AMc	+++	+	-	+++	-

TABLA 3D (continuación)

Anticuerpo	Especie	Subtipo		FACS en células 293		FACS en CHO estables	
1A7	murina	IgG1/kappa	Fab			1 nM	-
			AMc	+++	-	0,7 nM	-
2F3	murina	IgG2a	Fab				
			AMc	+/-	+/-		
3P1D10.2C3	murina	IgG1	AMc				
3P1E11.3B7	murina	IgG1	AMc				
6P4F4.1D3	murina	IgG1/kappa	AMc				
6P4F4.1F9	murina	IgG1/kappa	AMc				
7P1D5.1G9 (ATCC PTA-8107)	murina	IgG1/kappa	Fab	+		(10,4) nM	3,7 nM
			AMc	+++		2,7 nM	1 nM
1B6.4	murina	IgG1/kappa	AMc	+++	+++		
2C7.2	murina	IgG1/kappa	AMc	+++	+++		
2D6.1	murina	IgG1/kappa	AMc	++(*)	++(*)	-	-
2F7.3	murina	IgG1/kappa	AMc	++	++		
2H3.2	murina	IgG1/kappa	AMc	++	++		
3C11.1	murina	IgG1/kappa	AMc	++	++		
3E3.1	murina	IgG1/kappa	AMc	+++	+++		
3H11.2	murina	IgG1/kappa	AMc	++	++		
3G8.1	murina		AMc	+	+		
2B8.1	murina		AMc	++	++	5,4 nM	
3B5.2 (ATCC: PTA-8106)	murina	IgG1/kappa	AMc	+++	+++	< 0,4 nM	0,4 nM
3P3C10.2	murina		AMc			5,1 nM	4,4 nM
3P4F4.6	murina		AMc			4,6 nM	6 nM

TABLA 3D (CONTINUACIÓN)

Anticuerpo	Especie	Subtipo		ELISA			
				hLINGO-1	LRR	Ig	mLINGO1
30-C12 (Dli01)	humana	kappa	Fab	++	+	-	
38-D01 (Dli02)	humana	lambda	Fab	+	-	-	
35-E04 (Dli03)	humana	kappa	Fab	+++	+	-	+++
			Ac				
36-C09 (Dli04)	humana		Fab	+	-	-	
30-A11 (Dli05)	humana	lambda	Fab	+++	- (CG), ++ (ZS)	-	+++
			Ac				
34-F02 (Dli06)	humana	kappa	Fab	++	- (CG), +/- (ZS)	-	++
			Ac				
29-E07 (Dli07)	humana	lambda	Fab	++	+	+/-	
34-G04 (Dli08)	humana	kappa	Fab	- (CG), ++ (ZS)	- (CG), +/- (ZS)	-	+
			Ac				
36-A12 (Dli09)	humana	kappa	Fab	-	-	-	
28-D02 (Dli10)	humana	kappa	Fab	++	-	-	
			Ac				
30-B01 (Dli11)	humana	kappa	Fab	+++	+	-	
			Ac				
34-B03 (Dli12)	humana		Fab	++	+/-	-	
72-D03 (Dli13)	humana		Fab	++++	-	-	++++
			Ac				
73-C08 (Dli17)	humana		Fab	+++	-	-	+++
74-E08 (Dli21)	humana		Fab	+++	+	-	+++
75-H04 (Dli24)	humana		Fab	++++	-	-	++++
76-F10 (Dli28)	humana		Fab	++++	+	-	++++
79-G02 (Dli32)	humana		Fab	++++	+	-	++++
80-A08 (Dli33)	humana		Fab	++++	++	-	++++
			Ac				
80-D02 (Dli34)	humana		Fab	++++	++	-	+++++
			Ac				
81-C01 (Dli35)	humana		Fab	++++	++	-	++++
74-D05 (Dli36)	humana		Fab	++++			++++
74-F02 (Dli40)	humana		Fab	++++			++++
75-B09 (Dli42)	humana		Fab	++++			++++
94-E07 (Dli54)	humana		Fab	++++			++++
98-B10 (Dli55)	humana		Fab	++++			+++
544-L-M0054-E03 (Dli62)	humana		Fab	++++			
		IgG1Agly	Ac				
544-L-M0059-G09 (Dli63)	humana		Fab	++++			
544-L-M0063-G06 (Dli64)	humana		Fab	++++			
544-L-M0069-D12 (Dli65)	humana		Fab	++++			
544-L-M0070-H12 (Dli67)	humana		Fab	++++			
544-L-M0090-E09 (Di73)	humana		Fab	++++			
		IgG1Agly	Ac				
544-L-M0090-E12 (Dli74)	humana		Fab	++++			
544-L-M0090-F08 (Dli75)	humana		Fab	++++			
544-L-M0104-B01 (Dli77)	humana		Fab	++++			

ES 2 673 153 T3

544-L-M0120-E08 (Dli81)	humana		Fab	++++			
		IgG1Agly	Ac	0.25nM			0.27nM

TABLA 3D (CONTINUACIÓN)

Anticuerpo	Especie	Subtipo		FACS en células 293		FACS en CHO estable	
				hLINGO-1	mLINGO-1	hLINGO1	mLINGO1
30-C12 (Dli01)	humana	kappa	Fab				
38-D01 (Dli02)	humana	lambda	Fab				
35-E04 (Dli03)	humana	kappa	Fab				
			Ac				
36-C09 (Dli04)	humana		Fab				
30-A11 (Dli05)	humana	lambda	Fab	+		22,8 nM	-
			Ac	++		sin ajuste	5,5 nM
34-F02 (Dli06)	humana	kappa	Fab			21 nM	>200 nM
			Ac			2,32 nM	26,6 nM
29-E07 (Dli07)	humana	lambda	Fab				
34-G04 (Dli08)	humana	kappa	Fab	+/-		206 nM	190 nM
			Ac	++		3,3 nM	18,6 nM
36-A12 (Dli09)	humana	kappa	Fab				
28-D02 (Dli10)	humana	kappa	Fab				
			Ac	+++		0,49 nM	>400 nM
30-B01 (Dli11)	humana	kappa	Fab	+++			
			Ac	+++			
34-B03 (Dli12)	humana		Fab				
72-D03 (Dli13)	humana		Fab			0,74 nM, 3,2 (CG)	24,7 nM
			Ac				
73-C08 (Dli17)	humana		Fab				
74-E08 (Dli21)	humana		Fab				
75-H04 (Dli24)	humana		Fab				
76-F10 (Dli28)	humana		Fab				
79-G02 (Dli32)	humana		Fab				
80-A08 (Dli33)	humana		Fab			1,39 nM, 4 (CG)	sin ajuste
			Ac			0,208 nM para IgG2	
80-D02 (Dli34)	humana		Fab				
			Ac				
81-C01 (Dli36)	humana		Fab				
74-D05 (Dli39)	humana		Fab			7,6 nM (CG)	
74-F02 (Dli40)	humana		Fab			11 nM (CG)	
75-B09 (Dli42)	humana		Fab			28 nM (CG)	
94-E07 (Dli54)	humana		Fab			33 nM (CG)	
98-B10 (Dli55)	humana		Fab			50 nM (CG)	
544L-M0054-E03 (Dli62)	humana		Fab				
		IgG1Agly	Ac			0,261 nM	
544-L-M0059-G09 (Dli63)	humana		Fab				
544-L-M0063-G06 (Dli64)	humana		Fab				
544-L-M0069-D12 (Dli65)	humana		Fab				
544-L-M0070-H12 (Dli67)	humana		Fab				
544-L-M0090-	humana		Fab				

E09 (Dli73)							
		IgG1Agly	Ac				0,12 nM
544-L-M0090-E12 (Dli74)	humana		Fab				
544-L-M0090-F08 (Dli75)	humana		Fab				
544-L-M0104-B01 (Dli77)	humana		Fab				
544-L-M0120-E08 (Dli81)	humana		Fab				
		IgG1Agly	Ac				0,156 nM

TABLA 3E

Anticuerpo	Especie	Subtipo		IP				IHC	
				hLINGO -1	mLINGO -1	roedor endógeno	bloque o	congelad o	parafin a
1A7	murina	IgG1/kappa	Fab	+++ (U)	+/-				
			AM c	+++ (U)	+/-		sí		
2F3	murina	IgG2a	Fab						
			AM c	+++ (L)	+++ (L)	no	no	sí (débil)	+++
3P1D10.2C3	murina	IgG1	AM c						
3P1E11.3B7	murina	IgG1	AM c						
6P4F4.1D3	murina	IgG1/kappa	AM c	+++ (U)	+++				
6P4F4.1F9	murina	IgG1/kappa	AM c	+++ (U)	+++				
7P1D5.1G9 (ATCC PTA-8107)	murina	IgG1/kappa	Fab	+++ (U)	+++				
			AM c	+++ (U)	+++ (L)	sí	sí		
1B6.4	murina	IgG1/kappa	AM c	+++ (U)	+++ (L)	sí			
2C7.2	murina	IgG1/kappa	AM c	+++ (U)	+++ (L)		sí		
2D6.1	murina	IgG2a/kappa	AM c	-	-			no	
2F7.3	murina	IgG1/kappa	AM c	+++ (L)	+++ (L)		no		
2H3.2	murina	IgG1/kappa	AM c	+++ (L)	+++ (L)		no	no	
3C11.1	murina	IgG1/kappa	AM c	+++ (L)	+++ (L)	sí (débil)	no		
3E3.1	murina	IgG1/kappa	AM c	+++ (U)	+++ (L)	sí	sí	no	
3H11.2	murina	IgG1/kappa	AM c	+++ (L)	+++ (L)				
3G8.1	murina		AM c	+++ (U)	+++		sí		
2B8.1	murina		AM c	+++ (U)	+ (L)		sí		
3B5.2 (ATCC:	murina	IgG1/kappa	AM c	+++ (U)	+++	sí	sí		

ES 2 673 153 T3

PTA-8106)									
3P3C10.2	murina		AM c						
3P4F4.6	murina		AM c						
30-C12 (Dli01)	human a	kappa	Fab	++	++				
38-D01 (Dli02)	human a	lambda	Fab	-/+	-/+				
35-E04 (Dli03)	human a	kappa	Fab	++	+++	no		no	
			Ac						
36-C09 (Dli04)	human a		Fab	-/+	-/+				
30-A11 (Dli05)	human a	lambda	Fab	++	++				
			Ac	++ (U)	++ (L)	sí			
34-F02 (Dli06)	human a	kappa	Fab	++	++				
			Ac						
29-E07 (Dli07)	human a	lambda	Fab	++	++				
34-G04 (Dli08)	human a	kappa	Fab	++	++				
			Ac	++ (U)	++ (L)				
36-A12 (Dli09)	human a	kappa	Fab	-	-				
28-D02 (Dli10)	human a	kappa	Fab	-/+	+/-				
			Ac						
30-B01 (Dli11)	human a	kappa	Fab	++ (U)	++ (L)				
			Ac			sí		no	+
34-B03 (Dli12)	human a		Fab	+	+				
72-D03 (Dli13)	human a		Fab	++ (U)	++ (L)	no			
			Ac						++
73-C08 (Dli17)	human a		Fab						
74-E08 (Dli21)	human a		Fab						
75-H04 (Dli24)	human a		Fab						
76-F10 (Dli28)	human a		Fab						
79-G02 (Dli32)	human a		Fab						
80-A08 (Dli33)	human a		Fab	++ (banda superior)	++ (L)	sí (débil)			
			Ac					+++	+
80-D02 (Dli34)	human a		Fab	++ (U)	++ (L)				
			Ac					+++	+++
81-C01 (Dli36)	human a		Fab						
74-D05	human		Fab						

(Dli39)	a								
74-F02 (Dli40)	human a		Fab						
75-B09 (Dli42)	human a		Fab						
94-E07 (Dli54)	human a		Fab						
98-B10 (Dli55)	human a		Fab						
544L- M0054-E03 (Dli62)	human a		Fab						
		IgG1Agly	Ac						
544-L- M0059-G09 (Dli63)	human a		Fab						
544-L- M0063-G06 (Dli64)	human a		Fab						
544-L- M0069-D12 (Dli65)	human a		Fab						
544-L- M0070-H12 (Dli67)	human a		Fab						
544-L- M0090-E09 (Dli73)	human a		Fab						
		IgG1Agly	Ac						
544-L- M0090-E12 (Dli74)	human a		Fab						
544-L- M0090-F08 (Dli75)	human a		Fab						
544-L- M0104-B01 (Dli77)	human a		Fab						
544-L- M0120-E08 (Dli81)	human a		Fab						
		IgG1Agly	Ac	sí	sí	sí			

TABLA 3E (continuación)

Anticuerpo	Especie	Subtipo		Mielinización en cocultivo	Crecimiento de neuritas	LME	Aplastamiento nervio óptico	Cuprizona	Lisolecitina
1A7	murina	IgG1/kappa	Fab						
			AMc	sí	sí	sí?	sí	sí	sí
2F3	murina	IgG2a	Fab						
			AMc	sí	sí	no			
3P1D10.2C3	murina	IgG1	AMc	sí/no					
3P1E11.3B7	murina	IgG1	AMc	sí/no					
6P4F4.1D3	murina	IgG1/kappa	AMc	sí					
6P4F4.1F9	murina	IgG1/kappa	AMc						
7P1D5.1G9 (ATCC PTA- 8107)	murina	IgG1/kappa	Fab	sí					sí
			AMc	sí					no?
1B6.4	murina	IgG1/kappa	AMc	no					
2C7.2	murina	IgG1/kappa	AMc	no					

ES 2 673 153 T3

2D6.1	murina	IgG1/kappa	AMc	sí					
2F7.3	murina	IgG1/kappa	AMc	sí					
2H3.2	murina	IgG1/kappa	AMc	no					
3C11.1	murina	IgG1/kappa	AMc	sí					
3E3.1	murina	IgG1/kappa	AMc	no					
3H11.2	murina	IgG1/kappa	AMc	no					
3G8.1	murina		AMc	no					
2B8.1	murina		AMc	sí					
3B5.2 (ATCC: PTA/8106)	murina	IgG1/kappa	AMc	sí	sí	sí			
3P3C10.2	murina		AMc						
3P4F4.6	murina		AMc						
30-C12 (Dli01)	humana	kappa	Fab						
38-D01 (Dli02)	humana	lambda	Fab						
35-E04 (Dli03)	humana	kappa	Fab						
			Ac						
36-C09 (Dli04)	humana		Fab						
30-A11 (Dli05)	humana	lambda	Fab	sí					sí
			Ac	sí					sí
34-F02 (Dli06)	humana	kappa	Fab	sí					
			Ac	sí					
29-E07 (Dli07)	humana	lambda	Fab						
34-G04 (Dli08)	humana	kappa	Fab	sí					sí
			Ac	sí					sí/no
36-A12 (Dli09)	humana	kappa	Fab						
28-D02 (Dli10)	humana	kappa	Fab						
			Ac						
30-B01 (Dli11)	humana	kappa	Fab						
			Ac	no					
34-B03 (Dli12)	humana		Fab						
72-D03 (Dli13)	humana		Fab	sí					sí
			Ac						
73-C08 (Dli17)	humana		Fab						
74-E08 (Dli21)	humana		Fab						
75-H04 (Dli24)	humana		Fab	no					
76-F10 (Dli28)	humana		Fab	sí					
79-G02 (Dli32)	humana		Fab						
80-A08 (Dli33)	humana		Fab	sí					sí
			Ac						sí
80-D02 (Dli34)	humana		Fab	no					
			Ac						
81-C01 (Dli36)	humana		Fab	no					
74-D05	humana		Fab						

(Dli39)									
74-F02 (Dli40)	humana		Fab						
75-B09 (Dli42)	humana		Fab						
94-E07 (Dli54)	humana		Fab						
98-B10 (Dli55)	humana		Fab						
544-L- M0054-E03 (Dli62)	humana		Fab	sí					
		IgG1Agly	Ac	sí					
544-L- M0059-G09 (Dli63)	humana		Fab	no					
544-L- M0063-G06 (Dli64)	humana		Fab	no					
544-L- M0069-D12 (Dli65)	humana		Fab	sí					
544-L- M0070-H12 (Dli67)	humana		Fab	sí					
544-L- M0090-E09 (Dli73)	humana		Fab	sí					
		IgG1Agly	Ac	sí					
544-L- M0090-E12 (Dli74)	humana		Fab	no					
544-L- M0090-F08 (Dli75)	humana		Fab	no					
544-L- M0104-B01 (Dli77)	humana		Fab	sí					
544-L- M0120-E08 (Dli81)	humana		Fab	sí					
		IgG1Agly	Ac	sí					sí

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "dominio de unión a antígeno" incluye un sitio que se une específicamente a un epítipo en un antígeno (por ejemplo, un epítipo de Sp35). El dominio de unión a antígeno de un anticuerpo incluye normalmente al menos una parte de una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina y al menos una parte de una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina. El sitio de unión formado por estas regiones variables determina la especificidad del anticuerpo.

La presente descripción está dirigida más específicamente a un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivados del mismo, donde el anticuerpo Sp35 se une al mismo epítipo que un anticuerpo monoclonal seleccionado de entre el grupo que consiste en 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495(L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 y Li81.

La descripción se dirige además a un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivados del mismo, donde el anticuerpo Sp35 inhibe competitivamente un anticuerpo monoclonal seleccionado de entre el grupo que consiste en 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495(L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565

(L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 y Li81 de la unión a Sp35.

La descripción se dirige también a un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivados del mismo, donde el anticuerpo Sp35 comprende al menos la región de unión a antígeno de un anticuerpo monoclonal seleccionado de entre el grupo que consiste en 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495(L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 y Li81.

El 27 de diciembre de 2006, se depositaron los siguientes hibridomas en la American Type Culture Collection (ATCC) en Manassas, VA: 2.P3B5.2 (Designación de Depósito ATCC PTA-8106), 7.P1D5.1.G9 (Designación de Depósito ATCC PTA-8107). El hibridoma 2.P3B5.2 depositado produce el anticuerpo monoclonal 3B5.2, descrito en el presente documento y el hibridoma 7.P1D5.1.G9 depositado produce el anticuerpo monoclonal 7P1D5.1.G9, descrito en el presente documento. Los hibridomas pueden cultivarse de acuerdo con procedimientos bien conocidos en la técnica y descritos en el presente documento.

En algunos casos, la presente descripción se dirige a un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo que se une de forma específica o preferente a un fragmento o dominio de polipéptido Sp35 en particular. Dichos fragmentos de polipéptidos Sp35 incluyen, pero no se limitan a, un polipéptido Sp35 que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en los aminoácidos 34 a 532; 34 a 417; 34 a 425; 34 a 493; 66 a 532; 66 a 417; 66 a 426; 66 a 493; 66 a 532; 417 a 532; 417 a 425 (la región básica de Sp35); 417 a 493; 417 a 532; 419 a 493 (la región Ig de Sp35); o 425 a 532 de SEQ ID NO: 2; o una variante de polipéptido Sp35 con al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con los aminoácidos 34 a 532; 34 a 417; 34 a 425; 34 a 493; 66 a 532; 66 a 417; 66 a 426; 66 a 493; 66 a 532; 417 a 532; 417 a 425 (la región básica de Sp35); 417 a 493; 417 a 532; 419 a 493 (la región Ig de Sp35); o 425 a 532 de SEQ ID NO: 2.

Los fragmentos de péptidos Sp35 adicionales a los que se unen ciertos anticuerpos, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a aquellos fragmentos que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en una o más repeticiones ricas en leucina (LRR) de Sp35. Dichos fragmentos incluyen, por ejemplo, fragmentos que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en los aminoácidos 66 a 89; 66 a 113; 66 a 137; 90 a 113; 114 a 137; 138 a 161; 162 a 185; 186 a 209; 210 a 233; 234 a 257; 258 a 281; 282 a 305; 306 a 329; o 330 a 353 de SEQ ID NO: 2. También se contemplan los fragmentos correspondientes de una variante de polipéptido Sp35 con al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con los aminoácidos 66 a 89; 66 a 113; 90 a 113; 114 a 137; 138 a 161; 162 a 185; 186 a 209; 210 a 233; 234 a 257; 258 a 281; 282 a 305; 306 a 329; o 330 a 353 de SEQ ID NO: 2.

Los fragmentos de péptidos Sp35 adicionales a los que se unen ciertos anticuerpos, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a aquellos fragmentos que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en una o más regiones ricas en cisteína que flanquean la LRR de Sp35. Dichos fragmentos incluyen, por ejemplo, un fragmento que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en los aminoácidos 34 a 64 de SEQ ID NO: 2 (la región de flanqueo LRR en el extremo N(LRRNT)), o un fragmento que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en los aminoácidos 363 a 416 de SEQ ID NO: 2 (región de flanqueo LRR en el extremo C (LRRCT)). También se contemplan fragmentos de aminoácidos correspondientes de una variante de polipéptido Sp35 con al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con los aminoácidos 34 a 64 y 363 a 416 de SEQ ID NO: 2.

Tal como se conoce en la técnica, la "identidad de secuencia" entre dos polipéptidos se determina comparando la secuencia de aminoácidos de un polipéptido con la secuencia de un segundo polipéptido. Cuando se indica en el presente documento, el hecho de que un polipéptido cualquiera en particular tenga al menos aproximadamente el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con otro polipéptido puede determinarse usando procedimientos y programas/software informáticos conocidos en la técnica tales como, pero sin limitarse a, el programa BESTFIT (Wisconsin Sequence Analysis Package, Versión 8 para Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, WI 53711). BESTFIT usa el algoritmo de homología local de Smith y Waterman, *Advances in Applied Mathematics* 2:482-489 (1981), para encontrar el mejor segmento de homología entre dos secuencias. Cuando se usa BESTFIT o cualquier otro programa de alineación de secuencias para determinar si una secuencia en particular tiene, por ejemplo, el 95 % de identidad con una secuencia de referencia de acuerdo con la presente descripción, los parámetros se establecen, naturalmente, de manera que el porcentaje de identidad se

calcula en toda la longitud de la secuencia polipeptídica de referencia y que se permiten diferencia en la homología de hasta el 5 % del número total de aminoácidos en la secuencia de referencia.

5 Los fragmentos de péptidos Sp35 adicionales a los que se unen ciertos anticuerpos, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a aquellos fragmentos que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en los aminoácidos 41 a 525 de SEQ ID NO: 2; 40 a 526 de SEQ ID NO: 2; 39 a 527 de SEQ ID NO: 2; 38 a 528 de SEQ ID NO: 2; 37 a 529 de SEQ ID NO: 2; 36 a 530 de SEQ ID NO: 2; 35 a 531 de SEQ ID NO: 2; 34 a 531 de SEQ ID NO: 2; 46 a 520 de SEQ ID NO: 2; 45 a 521 de SEQ ID NO: 2; 44 a 522 de SEQ ID NO: 2; 43 a 523 de SEQ ID NO: 2; y 42 a 524 de SEQ ID NO: 2.

10 Otros fragmentos de péptidos Sp35 adicionales a los que se unen ciertos anticuerpos, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a aquellos fragmentos que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en los aminoácidos 1 a 33 de SEQ ID NO: 2; 1 a 35 de SEQ ID NO: 2; 34 a 64 de SEQ ID NO: 2; 36 a 64 de SEQ ID NO: 2; 66 a 89 de SEQ ID NO: 2; 90 a 113 de SEQ ID NO: 2; 114 a 137 de SEQ ID NO: 2; 138 a 161 de SEQ ID NO: 2; 162 a 185 de SEQ ID NO: 2; 186 a 209 de SEQ ID NO: 2; 210 a 233 de SEQ ID NO: 2; 234 a 257 de SEQ ID NO: 2; 258 a 281 de SEQ ID NO: 2; 282 a 305 de SEQ ID NO: 2; 306 a 329 de SEQ ID NO: 2; 330 a 353 de SEQ ID NO: 2; 363 a 416 de SEQ ID NO: 2; 417 a 424 de SEQ ID NO: 2; 419 a 493 de SEQ ID NO: 2; y 494 a 551 de SEQ ID NO: 2.

20 Aún más, los fragmentos de péptidos Sp35 a los que se unen ciertos anticuerpos, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a aquellos fragmentos que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en los aminoácidos 1 a 33 de SEQ ID NO: 2; 1 a 35 de SEQ ID NO: 2; 1 a 64 de SEQ ID NO: 2; 1 a 89 de SEQ ID NO: 2; 1 a 113 de SEQ ID NO: 2; 1 a 137 de SEQ ID NO: 2; 1 a 161 de SEQ ID NO: 2; 1 a 185 de SEQ ID NO: 2; 1 a 209 de SEQ ID NO: 2; 1 a 233 de SEQ ID NO: 2; 1 a 257 de SEQ ID NO: 2; 1 a 281 de SEQ ID NO: 2; 1 a 305 de SEQ ID NO: 2; 1 a 329 de SEQ ID NO: 2; 1 a 353 de SEQ ID NO: 2; 1 a 416 de SEQ ID NO: 2; 1 a 424 de SEQ ID NO: 2; 1 a 493 de SEQ ID NO: 2; 1 a 551 de SEQ ID NO: 2; 1 a 531 de SEQ ID NO: 2 y 1 a 532 de SEQ ID NO: 2.

30 Los fragmentos de péptidos Sp35 adicionales a los que se unen ciertos anticuerpos, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a aquellos fragmentos que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en los aminoácidos 34 a 64 de SEQ ID NO: 2; 34 a 89 de SEQ ID NO: 2; 34 a 113 de SEQ ID NO: 2; 34 a 137 de SEQ ID NO: 2; 34 a 161 de SEQ ID NO: 2; 34 a 185 de SEQ ID NO: 2; 34 a 209 de SEQ ID NO: 2; 34 a 233 de SEQ ID NO: 2; 34 a 257 de SEQ ID NO: 2; 34 a 281 de SEQ ID NO: 2; 34 a 305 de SEQ ID NO: 2; 34 a 329 de SEQ ID NO: 2; 34 a 353 de SEQ ID NO: 2; 34 a 416 de SEQ ID NO: 2; 34 a 424 de SEQ ID NO: 2; 34 a 493 de SEQ ID NO: 2; y 34 a 551 de SEQ ID NO: 2.

Más fragmentos de péptidos Sp35 adicionales a los que se unen ciertos anticuerpos, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a aquellos fragmentos que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en los aminoácidos 34 a 530 de SEQ ID NO: 2; 34 a 531 de SEQ ID NO: 2; 34 a 532 de SEQ ID NO: 2; 34 a 533 de SEQ ID NO: 2; 34 a 534 de SEQ ID NO: 2; 34 a 535 de SEQ ID NO: 2; 34 a 536 de SEQ ID NO: 2; 34 a 537 de SEQ ID NO: 2; 34 a 538 de SEQ ID NO: 2; 34 a 539 de SEQ ID NO: 2; 30 a 532 de SEQ ID NO: 2; 31 a 532 de SEQ ID NO: 2; 32 a 532 de SEQ ID NO: 2; 33 a 532 de SEQ ID NO: 2; 34 a 532 de SEQ ID NO: 2; 35 a 532 de SEQ ID NO: 2; 36 a 532 de SEQ ID NO: 2; 30 a 531 de SEQ ID NO: 2; 31 a 531 de SEQ ID NO: 2; 32 a 531 de SEQ ID NO: 2; 33 a 531 de SEQ ID NO: 2; 34 a 531 de SEQ ID NO: 2; 35 a 531 de SEQ ID NO: 2; y 36 a 531 de SEQ ID NO: 2.

50 Aún más, los fragmentos de péptidos Sp35 a los que se unen ciertos anticuerpos, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a aquellos fragmentos que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en los aminoácidos 36 a 64 de SEQ ID NO: 2; 36 a 89 de SEQ ID NO: 2; 36 a 113 de SEQ ID NO: 2; 36 a 137 de SEQ ID NO: 2; 36 a 161 de SEQ ID NO: 2; 36 a 185 de SEQ ID NO: 2; 36 a 209 de SEQ ID NO: 2; 36 a 233 de SEQ ID NO: 2; 36 a 257 de SEQ ID NO: 2; 36 a 281 de SEQ ID NO: 2; 36 a 305 de SEQ ID NO: 2; 36 a 329 de SEQ ID NO: 2; 36 a 353 de SEQ ID NO: 2; 36 a 416 de SEQ ID NO: 2; 36 a 424 de SEQ ID NO: 2; 36 a 493 de SEQ ID NO: 2; y 36 a 551 de SEQ ID NO: 2.

55 Los fragmentos de péptidos Sp35 adicionales a los que se unen ciertos anticuerpos, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a aquellos fragmentos que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en los aminoácidos 36 a 530 de SEQ ID NO: 2; 36 a 531 de SEQ ID NO: 2; 36 a 532 de SEQ ID NO: 2; 36 a 533 de SEQ ID NO: 2; 36 a 534 de SEQ ID NO: 2; 36 a 535 de SEQ ID NO: 2; 36 a 536 de SEQ ID NO: 2; 36 a 537 de SEQ ID NO: 2; 36 a 538 de SEQ ID NO: 2; y 36 a 539 de SEQ ID NO: 2.

Más fragmentos de péptidos Sp35 a los que se unen ciertos anticuerpos, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a aquellos fragmentos que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en los aminoácidos 417 a 493 de SEQ ID NO: 2; 417 a 494 de SEQ ID NO: 2; 417 a 495 de SEQ ID NO: 2; 417 a 496 de SEQ ID NO: 2; 417 a 497 de SEQ ID NO: 2; 417 a 498 de SEQ ID NO: 2; 417 a 499 de SEQ ID NO: 2; 417 a 500 de SEQ ID NO: 2; 417 a 492 de SEQ ID NO: 2; 417 a 491 de SEQ ID NO: 2; 412 a 493 de SEQ ID NO: 2; 413 a 493 de SEQ ID NO: 2; 414 a 493 de SEQ ID NO: 2; 415 a 493 de SEQ ID NO: 2; 416 a 493 de SEQ ID NO: 2; 411 a 493 de SEQ ID NO: 2; 410 a 493 de SEQ ID NO: 2; 410 a 494 de SEQ ID NO: 2; 411 a 494 de SEQ ID NO: 2; 412 a 494 de SEQ ID NO: 2; 413 a 494 de SEQ ID NO: 2; 414 a 494 de SEQ ID NO: 2; 415 a 494 de SEQ ID NO: 2; 416 a 494 de SEQ ID NO: 2; 417 a 494 de SEQ ID NO: 2; y 418 a 494 de SEQ ID NO: 2.

En un caso adicional los fragmentos de péptidos Sp35 a los que se unen ciertos anticuerpos, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la presente descripción incluyen un polipéptido Sp35 que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en péptidos del dominio Ig de Sp35 o fragmentos, variantes o derivados de dichos polipéptidos. Específicamente, los polipéptidos que comprenden, consisten esencialmente en, o consisten en las siguientes secuencias de polipéptidos: ITX₁X₂X₃ (SEQ ID NO: 287), ACX₁X₂X₃ (SEQ ID NO: 288), VCX₁X₂X₃ (SEQ ID NO: 289) y SPX₁X₂X₃ (SEQ ID NO: 290) donde X₁ es lisina, arginina, histidina, glutamina o asparagina, X₂ es lisina, arginina, histidina, glutamina, o asparagina y X₃ es lisina, arginina, histidina, glutamina o asparagina. Por ejemplo, los fragmentos de péptidos Sp35 a los que se unen ciertos anticuerpos, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la presente descripción incluyen aquellos fragmentos que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en las siguientes secuencias de polipéptidos: SPRKH (SEQ ID NO: 291), SPRKK (SEQ ID NO: 292), SPRKR (SEQ ID NO: 293), SPKKH (SEQ ID NO: 294), SPHKH (SEQ ID NO: 295), SPRRH (SEQ ID NO: 296), SPRHH (SEQ ID NO: 297), SPRRR (SEQ ID NO: 298), SPHHH (SEQ ID NO: 299), SPCKK (SEQ ID NO: 300), LSPRKH (SEQ ID NO: 301), LSPRKK (SEQ ID NO: 302), LSPRKR (SEQ ID NO: 303), LSPKKH (SEQ ID NO: 304), LSPHKH (SEQ ID NO: 305), LSPRRH (SEQ ID NO: 306), LSPRHH (SEQ ID NO: 307), LSPRRR (SEQ ID NO: 308), LSPHHH (SEQ ID NO: 309) LSPKKK (SEQ ID NO: 310), WLSPRKH (SEQ ID NO: 311), WLSPRKK (SEQ ID NO: 312), WLSPRKR (SEQ ID NO: 313), WLSPKKH (SEQ ID NO: 314), WLSPHKH (SEQ ID NO: 315), WLSPRRH (SEQ ID NO: 316), WLSPRHH (SEQ ID NO: 317), WLSPRRR (SEQ ID NO: 318), WLSPHHH (SEQ ID NO: 319) y WLSPKKK (SEQ ID NO: 320). Estos polipéptidos Sp35 incluyen el "bucle RKH" básico (aminoácidos Arginina-Lisina-Histidina 456-458) en el dominio Ig de Sp35. Los péptidos Sp35 adicionales que incluyen un tripéptido básico son ITPKRR (SEQ ID NO: 321), ACHHK (SEQ ID NO: 322) y VCHHK (SEQ ID NO: 323).

Los fragmentos de péptidos Sp35 adicionales a los que se unen ciertos anticuerpos, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la presente descripción incluyen un polipéptido Sp35 que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en péptidos del dominio Ig de Sp35 o fragmentos, variantes o derivados de dichos polipéptidos. Específicamente, los péptidos que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en las siguientes secuencias de polipéptidos: X₄X₅RKH (SEQ ID NO: 324), X₄X₅RRR (SEQ ID NO: 325), X₄X₅KKK (SEQ ID NO: 326), X₄X₅HHH (SEQ ID NO: 327), X₄X₅RKK (SEQ ID NO: 328), X₄X₅RKR (SEQ ID NO: 329), X₄X₅KKH (SEQ ID NO: 330), X₄X₅HKH (SEQ ID NO: 331), X₄X₅RRH (SEQ ID NO: 332) y X₄X₅RHH (SEQ ID NO: 333) donde X₄ es cualquier aminoácido y X₅ es cualquier aminoácido.

En otros casos fragmentos de péptidos Sp35 a los que se unen ciertos anticuerpos, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la presente descripción incluyen un polipéptido Sp35 que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en péptidos del dominio Ig de Sp35 o fragmentos, variantes o derivados de dichos polipéptidos. Específicamente, los polipéptidos que comprenden, consisten esencialmente en, o consisten en las siguientes secuencias de polipéptidos: ITX₆X₇X₈ (SEQ ID NO: 334), ACX₆X₇X₈ (SEQ ID NO: 335), VCX₆X₇X₈ (SEQ ID NO: 336) y SPX₆X₇X₈ (SEQ ID NO: 337) donde X₆ es lisina, arginina, histidina, glutamina, o asparagina, X₇ es cualquier aminoácido y X₈ es lisina, arginina, histidina, glutamina, o asparagina. Por ejemplo, un polipéptido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la siguiente secuencia polipeptídica: SPRLH (SEQ ID NO: 338).

Los fragmentos de péptidos Sp35 a los que se unen ciertos anticuerpos, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la presente descripción incluyen un polipéptido Sp35 que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en péptidos que contienen aminoácidos 452-458 en el dominio Ig de Sp35, o derivados de los mismos, donde aminoácido 452 es un residuo de triptófano o fenilalanina.

Los fragmentos de péptidos Sp35 adicionales a los que se unen ciertos anticuerpos, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la presente descripción incluyen un polipéptido Sp35 que

comprende, consiste esencialmente en, o consiste en péptidos del dominio básico de Sp35. Específicamente, los péptidos que comprenden, consisten esencialmente en, o consisten en las siguientes secuencias de polipéptidos: RRARIRDRK (SEQ ID NO: 339), KKVKEKEK (SEQ ID NO: 340), RRLRLDRK (SEQ ID NO: 341), RRGRGRDRK (SEQ ID NO: 342) y RRIRARDRK (SEQ ID NO: 343).

5

Los polipéptidos Sp35 solubles de ejemplo adicionales y los procedimientos y materiales para obtener estas moléculas para producir anticuerpos o fragmentos de anticuerpos de la presente descripción pueden encontrarse, por ejemplo, en la publicación PCT WO-2004/085.648.

- 10 Los procedimientos para preparar anticuerpos son bien conocidos en la técnica y se describen en el presente documento. Una vez que se han producido los anticuerpos para diversos fragmentos de, o para el Sp35 de longitud completa sin la secuencia señal, la determinación de que los aminoácidos, o epítomos, de Sp35 a los que se une el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno puede determinarse por protocolos de correspondencia de epítomos tal como se describe en el presente documento así como procedimientos conocidos en la técnica (por ejemplo, 15 ELISA en sándwich de anticuerpos doble tal como se describe en "Chapter 11 - Immunology", Current Protocols in Molecular Biology, Ed. Ausubel *et al.*, v.2, John Wiley & Sons, Inc. (1996)). Pueden encontrarse protocolos de correspondencia de epítomos adicionales en Morris, G. Epitope Mapping Protocols, Nueva Jersey: Humana Press (1996). La correspondencia de epítomos puede realizarse también por medios disponibles comercialmente (por ejemplo, ProtoPROBE, Inc. (Milwaukee, Wisconsin)).

20

Además, los anticuerpos producidos que se unen a cualquier parte de Sp35 puede cribarse a continuación según su capacidad para actuar como antagonistas de Sp35 y promover así el crecimiento de neuritas, la supervivencia neuronal y de oligodendrocitos, la proliferación y la diferenciación, así como promover la mielinización. Puede realizarse un cribado de anticuerpos según la supervivencia de oligodendrocitos/neuronal usando el procedimiento 25 tal como se describe en los Ejemplos 10 y 11. Además, puede realizarse un cribado de anticuerpos según su capacidad para promover la mielinización usando el procedimiento del Ejemplo 9. Finalmente, puede realizarse un cribado de los anticuerpos según su capacidad para promover la proliferación y diferenciación de oligodendrocitos, así como el crecimiento de neuritas usando el procedimiento tal como se describe en el Ejemplo 7. Otras funciones antagonistas de los anticuerpos de la presente descripción pueden analizarse usando otros ensayos tal como se

30

En otros casos, la presente descripción incluye un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo que se une de forma específica o preferente a al menos un epítomo de Sp35, donde el epítomo comprende, consiste esencialmente en, o consiste en al menos aproximadamente cuatro a cinco aminoácidos de 35 SEQ ID NO: 2, al menos siete, al menos nueve, o entre al menos aproximadamente 15 y aproximadamente 30 aminoácidos de SEQ ID NO: 2. Los aminoácidos de un epítomo dado de SEQ ID NO: 2 tal como se describe pueden ser, aunque no necesariamente, contiguos o lineales. En algunos casos, el al menos un epítomo de Sp35 comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un epítomo no lineal formado por el dominio de Sp35 extracelular tal como se expresa en la superficie de una célula o como un fragmento soluble, por ejemplo, fusionado 40 con una región Fc de IgG. Así, en algunos casos el al menos un epítomo de Sp35 comprende, consiste esencialmente en, o consiste en al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 25, entre aproximadamente 15 y aproximadamente 30, o al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100 aminoácidos contiguos o no contiguos de SEQ ID NO: 2, donde los aminoácidos no contiguos forman un epítomo a través de plegamiento de proteínas.

45

En otros casos, la presente descripción incluye un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo que se unen de forma específica o preferente a al menos un epítomo de Sp35, donde el epítomo comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, además de uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o más aminoácidos contiguos o no contiguos de SEQ ID NO: 2 tal como se describe anteriormente, y puede incluirse una 50 fracción adicional que modifica la proteína, por ejemplo, una fracción de hidratos de carbono de manera que el anticuerpo Sp35 se une con mayor afinidad a la proteína objeto modificada de lo que lo haría con una versión no modificada de la proteína. Alternativamente, el anticuerpo Sp35 no se une en ningún modo con la versión no modificada de la proteína objeto.

- 55 En algunos casos, la presente descripción se dirige a un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo que se une específicamente a un polipéptido Sp35 o un fragmento del mismo, o una variante de polipéptido Sp35, con una afinidad caracterizada por una constante de disociación (K_D) que es inferior que la K_D para dicho anticuerpo monoclonal de referencia.

- 60 En algunos casos, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo de la descripción

- se une específicamente a al menos un epítipo de Sp35 o fragmento o variante descritos anteriormente, es decir, se une a dicho epítipo más fácilmente de lo que lo haría con un epítipo aleatorio o no relacionado; se une preferentemente a al menos un epítipo de Sp35 o fragmento o variante descritos anteriormente, es decir, se une a dicho epítipo más fácilmente de lo que lo haría con un epítipo homólogo, análogo, similar o relacionado; inhibe competitivamente la unión de un anticuerpo de referencia que en sí se une de forma específica o preferente a un cierto epítipo de Sp35 o fragmento o variante descritos anteriormente; o se une a al menos un epítipo de Sp35 o fragmento o variante descritos anteriormente con una afinidad caracterizada por una constante de disociación K_D de menos de aproximadamente 5×10^{-2} M, aproximadamente 10^{-2} M, aproximadamente 5×10^{-3} M, aproximadamente 10^{-3} M, aproximadamente 5×10^{-4} M, aproximadamente 10^{-4} M, aproximadamente 5×10^{-5} M, aproximadamente 10^{-5} M, aproximadamente 5×10^{-6} M, aproximadamente 10^{-6} M, aproximadamente 5×10^{-7} M, aproximadamente 10^{-7} M, aproximadamente 5×10^{-8} M, aproximadamente 10^{-8} M, aproximadamente 5×10^{-9} M, aproximadamente 10^{-9} M, aproximadamente 5×10^{-10} M, aproximadamente 10^{-10} M, aproximadamente 5×10^{-11} M, aproximadamente 10^{-11} M, aproximadamente 5×10^{-12} M, aproximadamente 10^{-12} M, aproximadamente 5×10^{-13} M, aproximadamente 10^{-13} M, aproximadamente 5×10^{-14} M, aproximadamente 10^{-14} M, aproximadamente 5×10^{-15} M, o aproximadamente 10^{-15} M.
- 5 En un caso en particular, el anticuerpo o fragmento del mismo se une preferentemente a un polipéptido Sp35 humano o fragmento del mismo, con respecto a un polipéptido Sp35 murino o fragmento del mismo.

- Tal como se usa en el contexto de constantes de disociación de unión a anticuerpos, el término "aproximadamente" permite el grado de variación inherente en los procedimientos usados para medir la afinidad de anticuerpos. Por ejemplo, dependiendo del nivel de precisión de la instrumentación usada, el error estándar basado en el número de muestras medidas y el error de redondeo, la expresión "aproximadamente 10^{-2} M" podría incluir, por ejemplo, de 0,05 M a 0,005 M.
- 20

- En casos concretos, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo de la descripción se une a polipéptidos Sp35 o fragmentos o variantes de los mismos con una constante cinética de disociación ($k(\text{off})$) menor o igual que $5 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$, 10^{-2} s^{-1} , $5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ o 10^{-3} s^{-1} . Alternativamente, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo de la descripción se une a polipéptidos Sp35 o fragmentos o variantes de los mismos con una constante cinética de disociación ($k(\text{off})$) menor o igual que $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$, 10^{-4} s^{-1} , $5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, o 10^{-5} s^{-1} , $5 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$, 10^{-6} s^{-1} , $5 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ o 10^{-7} s^{-1} .
- 25

- En otros casos, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo de la descripción se une a polipéptidos Sp35 o fragmentos o variantes de los mismos con una constante cinética de asociación ($k(\text{on})$) mayor o igual que $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ o $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Alternativamente, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo de la descripción se une a polipéptidos Sp35 o fragmentos o variantes de los mismos con una constante cinética de asociación ($k(\text{on})$) mayor o igual que $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, o $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ o $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.
- 30

- En varios casos, un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo tal como se describe en el presente documento es un antagonista de actividad Sp35. En algunos casos, por ejemplo, la unión de un anticuerpo Sp35 antagonista a Sp35, expresada en neuronas, bloquea el crecimiento asociado a mielina de la inhibición de neuritas o la muerte de células neuronales. En otros casos, la unión del anticuerpo Sp35 a Sp35, expresada en oligodendrocitos, bloquea la inhibición del crecimiento o diferenciación de oligodendrocitos, o bloquea la desmielinización o dismielinización de neuronas del SNC.
- 35

- Salvo que se indique específicamente, tal como se usa en el presente documento un "fragmento del mismo" en referencia a un anticuerpo hace referencia a un fragmento de unión a antígeno, es decir, una parte del anticuerpo que se une específicamente al antígeno. En un caso, un anticuerpo Sp35, por ejemplo, un anticuerpo de la descripción es un anticuerpo Sp35 biespecífico, polipéptido de unión o anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico, minicuerpo, anticuerpo de supresión de dominio o proteína de fusión que tiene especificidad de unión por más de un epítipo, por ejemplo, más de un antígeno o más de un epítipo en el mismo antígeno. En un caso, un anticuerpo Sp35 biespecífico, polipéptido de unión o anticuerpo tiene al menos un dominio de unión específico para al menos un epítipo en un polipéptido diana descrito en el presente documento, por ejemplo, Sp35. En otro caso, un anticuerpo Sp35 biespecífico, polipéptido de unión o anticuerpo tiene al menos un dominio de unión específico para un epítipo en un polipéptido diana y al menos un dominio de unión diana específico para un fármaco o toxina. En otro caso más, un anticuerpo Sp35 biespecífico, polipéptido de unión o anticuerpo tiene al menos un dominio de unión específico para un epítipo en un polipéptido diana descrito en el presente documento, y al menos un dominio de unión específico para un profármaco. Un anticuerpo Sp35 biespecífico, polipéptido de unión o anticuerpo puede ser un anticuerpo tetravalente que tiene dos dominios de unión diana específicos para un epítipo de un polipéptido diana descrito en el presente documento y dos dominios de unión diana específicos para una segunda diana. Así, un anticuerpo Sp35 biespecífico tetravalente, polipéptido de unión o anticuerpo puede ser bivalente para cada
- 45
- 50
- 55
- 60

especificidad.

Los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción, tal como se conoce por los expertos en la materia, pueden comprender una región constante que media en una o más funciones efectoras. Por ejemplo, la unión del componente C1 de complemento a una región constante de anticuerpo puede activar el sistema de complemento. La activación del complemento es importante en la opsonización y la lisis de patógenos celulares. La activación del complemento estimula también la respuesta inflamatoria y también puede implicarse en hipersensibilidad autoinmunitaria. Además, los anticuerpos se unen a los receptores en diversas células por medio de la región Fc, con un sitio de unión a receptor Fc en la región Fc de anticuerpo que se une a un receptor Fc (FcR) en una célula. Existe una serie de receptores Fc que son específicos para diferentes clases de anticuerpo, que incluyen IgG (receptores gamma), IgE (receptores épsilon), IgA (receptores alfa) e IgM (receptores mu). La unión de anticuerpo a los receptores Fc en las superficies celulares desencadena una serie de respuestas biológicas importantes y diversas que incluyen fagocitación y destrucción de las partículas recubiertas de anticuerpos, aclaramiento de los complejos inmunitarios, lisis de células diana recubiertas con anticuerpos por células citotóxicas (denominada citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos, o ADCC), liberación de mediadores inflamatorios, transferencia placentaria y control de producción de inmunoglobulinas.

Por consiguiente, algunos casos de la descripción incluyen un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo, en que al menos se ha suprimido o alterado por otros medios una fracción de uno o más de los dominios de región constante de manera que se proporcionan características bioquímicas deseadas tales como la reducción de las funciones efectoras, la capacidad de dimerización no covalente, el aumento de la capacidad de localización en el sitio de un tumor, la reducción de la semivida en suero o el aumento de la semivida en suero cuando se compara con un anticuerpo completo no alterado de aproximadamente la misma inmunogenicidad. Por ejemplo, ciertos anticuerpos para el uso en los procedimientos diagnósticos y terapéuticos descritos en el presente documento son anticuerpos con supresión de dominio que comprenden una cadena de polipéptidos similar a una cadena pesada de inmunoglobulina, pero que carecen de al menos una parte de uno o más dominios de cadena pesada. Por ejemplo, en ciertos anticuerpos, se suprimirá un dominio completo de la región constante del anticuerpo modificado, por ejemplo, se suprimirá parte o la totalidad del dominio C_H2.

En ciertos anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos descritos en el presente documento, la parte Fc puede estar mutada para reducir la función efectora usando técnicas conocidas en la técnica. Por ejemplo, la delección o inactivación (a través de mutaciones puntuales u otros medios) de un dominio de región constante puede reducir la unión del receptor Fc del anticuerpo modificado circulante aumentando así la localización del tumor. En otros casos puede suceder que las modificaciones de la región constante compatibles con la presente descripción moderen la unión al complemento y reduzcan así la semivida en suero y la asociación inespecífica de una citotoxina conjugada. Otras modificaciones más de la región constante pueden usarse para modificar los enlaces disulfuro o las fracciones de oligosacáridos que permiten una mejora de la localización debido a la mayor especificidad de antígenos o viabilidad de anticuerpos. El perfil fisiológico resultante, la biodisponibilidad y otros efectos bioquímicos de las modificaciones, tales como localización del tumor, biodistribución y semivida en suero, pueden medirse y cuantificarse fácilmente usando técnicas inmunológicas bien conocidas sin una experimentación indebida.

Pueden prepararse formas modificadas de anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción a partir de anticuerpos precursores o progenitores enteros usando técnicas conocidas en la técnica. En el presente documento se exponen en mayor detalle técnicas de ejemplo.

En algunos casos las regiones variables y constantes de los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos son totalmente humanas. Los anticuerpos humanos pueden prepararse usando técnicas que son conocidas en la técnica y tal como se describe en el presente documento. Por ejemplo, los anticuerpos totalmente humanos contra un antígeno específico pueden prepararse administrando el antígeno a un animal transgénico que ha sido modificado para producir dichos anticuerpos en respuesta a una provocación de antígenos, pero estos loci endógenos han sido desactivados. Las técnicas de ejemplo que pueden usarse para preparar dichos anticuerpos se describen en las patentes de EE. UU.: 6.150.584; 6.458.592; 6.420.140. En la técnica se conocen otras técnicas. Los anticuerpos totalmente humanos pueden producirse de forma semejante mediante diversas tecnologías de presentación, por ejemplo, presentación de fagos u otros sistemas de presentación de virus, tal como se describe en mayor detalle en otra parte en el presente documento.

Los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden prepararse o fabricarse usando técnicas que son conocidas en la técnica. En algunos casos, las moléculas

de anticuerpos o fragmentos de los mismos son "producidas de forma recombinante", es decir, son producidas usando tecnología de ADN recombinante. Las técnicas de ejemplo para preparar moléculas de anticuerpos o fragmentos de los mismos se exponen en mayor detalle en otra parte en el presente documento.

- 5 Los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción también incluyen derivados que son modificados, por ejemplo, por la fijación covalente de cualquier tipo de molécula al anticuerpo de manera que la fijación covalente no impide que el anticuerpo se una específicamente a su epítipo semejante. Por ejemplo, pero no de forma limitativa, los derivados de anticuerpo incluyen anticuerpos que han sido modificados, por ejemplo, por glucosilación, acetilación, pegilación, fosforilación, amidación, derivatización por
- 10 grupos de protección/bloqueo conocidos, escisión proteolítica, unión a un ligando celular u otra proteína, etc. Pueden realizarse numerosas modificaciones químicas mediante técnicas conocidas, que incluyen, pero no se limitan a escisión química específica, acetilación, formilación, síntesis metabólica de tunicamicina, etc. Además, el derivado puede contener uno o más aminoácidos no clásicos.
- 15 En algunos casos, los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción no provocarán una respuesta inmunitaria perjudicial en el animal que será tratado, por ejemplo, en un ser humano. En un caso, los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción son modificados para reducir su inmunogenicidad usando técnicas reconocidas en la técnica. Por ejemplo, los anticuerpos pueden ser humanizados, primateados, desinmunizados, o pueden prepararse
- 20 anticuerpos quiméricos. Estos tipos de anticuerpos proceden de un anticuerpo no humano, normalmente un anticuerpo murino o de primate, que conserva o conserva sustancialmente las propiedades de unión a antígeno del anticuerpo progenitor, pero que es menos inmunógeno en seres humanos. Esto puede conseguirse por diversos procedimientos, que incluyen (a) injerto de los dominios variables no humanos enteros en regiones constantes humanas para generar anticuerpos quiméricos; (b) injerto de al menos una parte de una o más de las regiones de
- 25 determinación de complementariedad (CDR) no humanas en regiones marco y constante humanas con o sin retención de residuos marco críticos; o (c) trasplante de los dominios variables no humanos completos, pero "ocultándolos" con una sección de tipo humano por sustitución de residuos superficiales. Dichos procedimientos se describen en Morrison *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81:6851-6855 (1984); Morrison *et al.*, *Adv. Immunol.* 44:65-92 (1988); Verhoeyen *et al.*, *Science* 239:1534-1536 (1988); Padlan, *Molec. Immun.* 28:489-498 (1991); Padlan, *Molec.*
- 30 *Immun.* 31:169-217 (1994), y patentes de EE. UU. n° 5.585.089, 5.693.761, 5.693.762 y 6.190.370.

La desinmunización puede usarse también para reducir la inmunogenicidad de un anticuerpo. Tal como se usa en el presente documento, el término "desinmunización" incluye la alteración de un anticuerpo para modificar los epítopos de linfocitos T (véanse, por ejemplo, los documentos WO-98/52976 A1, WO-00/34317 A2). Por ejemplo, se analizan

35 las secuencias V_H y V_L del anticuerpo de inicio y un epítipo de linfocitos T humanos establece una "correspondencia" entre cada región V que muestra la posición de los epítopos en relación con las regiones de determinación de complementariedad (CDR) y otros residuos clave dentro de la secuencia. Los epítopos de linfocitos T individuales del mapa de epítopos de linfocitos T son analizados para identificar sustituciones de aminoácidos alternativas con un riesgo bajo de alterar la actividad del anticuerpo final. Se designa un intervalo de secuencias V_H y

40 V_L alternativas que comprenden combinaciones de sustituciones de aminoácidos y posteriormente estas secuencias se incorporan en un intervalo de polipéptidos de unión, por ejemplo, anticuerpos específicos de Sp35 o fragmentos inmuno-específicos de los mismos para su uso en los procedimientos diagnósticos y terapéuticos descritos en el presente documento, cuya función se comprueba a continuación. Normalmente, se generan y se prueban entre 12 y

45 24 variantes de anticuerpos. A continuación, se clonan los genes de cadena pesada y ligera completos que comprenden regiones V y C humanas modificadas en vectores de expresión y los plásmidos subsiguientes introducidos en líneas celulares para la producción de un anticuerpo completo. A continuación, se comparan los anticuerpos en ensayos bioquímicos y biológicos apropiados, y se identifica la variante óptima.

Los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción

50 pueden generarse mediante cualquier procedimiento adecuado conocido en la técnica. Los anticuerpos policlonales para un antígeno de interés pueden producirse por diversos procedimientos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, un anticuerpo Sp35, por ejemplo, un polipéptido de unión, por ejemplo, un anticuerpo específico de Sp35 o un fragmento inmuno-específico del mismo puede administrarse a varios animales hospedadores que incluyen, pero no se limitan a, conejos, ratones, ratas, pollos, hámsteres, cabras, burros, etc., para inducir la producción de sueros

55 que contienen anticuerpos policlonales específicos para el antígeno. Pueden usarse diversos adyuvantes para aumentar la respuesta inmunológica, dependiendo de la especie hospedadora, e incluyen pero no se limitan a, Freund (completo y incompleto), geles minerales tales como hidróxido de aluminio, sustancias activas superficiales tales como lisolecitina, polioles plurónicos, polianiones, péptidos, emulsiones en aceite, hemocianinas de lapa californiana, dinitrofenol y adyuvantes humanos potencialmente útiles tales como BCG (bacilo Calmette-Guérin) y

60 *Corynebacterium parvum*. Dichos adyuvantes son también bien conocidos en la técnica.

Los anticuerpos monoclonales pueden prepararse usando una amplia variedad de técnicas conocidas en la técnica incluido el uso de tecnologías de hibridomas, recombinantes y de presentación de fagos, o una combinación de las mismas. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales pueden producirse usando técnicas de hibridomas que incluyen los conocidos en la técnica y descritos, por ejemplo, en Harlow *et al.*, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2ª ed. (1988); Hammerling *et al.*, en: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* Elsevier, N.S., 563-681 (1981). La expresión "anticuerpo monoclonal" tal como se usa en el presente documento no se limita a los anticuerpos producidos a través de tecnología de hibridomas. La expresión "anticuerpo monoclonal" hace referencia a un anticuerpo que se obtiene de un único clon, lo que incluye cualquier clon eucariota, procariota o de fago, y no el procedimiento por el cual se produce. Así, la expresión "anticuerpo monoclonal" no se limita a anticuerpos producidos a través de tecnología de hibridomas. Los anticuerpos monoclonales pueden prepararse usando ratones inactivados Sp35 para aumentar el reconocimiento de las regiones de epítomos. Los anticuerpos monoclonales pueden prepararse usando una amplia variedad de técnicas conocidas en la técnica que incluyen el uso de tecnología de hibridomas y recombinante y de presentación de fagos tal como se describe en otra parte en el presente documento.

Usando protocolos reconocidos en la técnica, en un ejemplo, los anticuerpos se desarrollan en mamíferos mediante múltiples inyecciones subcutáneas o intraperitoneales del antígeno de interés (por ejemplo, antígenos asociados a tumores purificados tales como Sp35 o células o extractos celulares que comprenden dichos antígenos) y un adyuvante. Esta inmunización desencadena normalmente una respuesta inmunitaria que comprende la producción de anticuerpos reactivos a antígenos a partir de esplenocitos o linfocitos activados. Si bien los anticuerpos resultantes pueden recogerse del suero del animal para proporcionar preparaciones policlonales, a menudo es deseable aislar linfocitos individuales del bazo, los ganglios linfáticos o la sangre periférica para proporcionar preparaciones homogéneas de anticuerpos monoclonales (AMc). Preferentemente, los linfocitos se obtienen del bazo.

En este procedimiento bien conocido (Kohler *et al.*, *Nature* 256:495 (1975)) los linfocitos de vida relativamente corta, o mortales, obtenidos de un mamífero al que se ha inyectado un antígeno están fusionados con una línea celular tumoral inmortal (por ejemplo, una mieloma línea celular), produciendo así células híbridas o "hibridomas" que son a la vez inmortales y capaces de producir el anticuerpo codificado genéticamente del linfocito B. Los híbridos resultantes se segregan en cepas genéticas individuales mediante selección, dilución y nuevo crecimiento con cada cepa individual que comprende genes específicos para la formación de un anticuerpo individual. Producen anticuerpos que son homogéneos frente a un antígeno deseado y, en referencia a su ascendencia genética pura, se denominan "monoclonales".

Las células de hibridoma así preparadas se siembran y se cultivan en un medio de cultivo adecuado que contiene preferentemente una o más sustancias que inhiben el crecimiento o supervivencia de las células de mieloma parentales no fusionadas. Los expertos en la materia observarán que los reactivos, las líneas celulares y los medios para la formación, selección y crecimiento de hibridomas están disponibles comercialmente en diversas fuentes y que existen protocolos bien establecidos. En general, el medio de cultivo en el que se desarrollan las células de hibridoma se somete a ensayo en cuanto a la producción de anticuerpos monoclonales frente al antígeno deseado. Preferentemente, la especificidad de unión de los anticuerpos monoclonales producidos por células de hibridoma se determina por ensayos *in vitro* tales como inmunoprecipitación, radioinmunoensayo (RIA) o ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA). Después de identificar las células de hibridoma que producen anticuerpos de la especificidad, afinidad y/o actividad deseadas, los clones pueden subclonarse limitando los procedimientos de dilución y usando procedimientos estándar de crecimiento (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, Academic Press, pág. 59-103 (1986)). Se observará además que los anticuerpos monoclonales secretados por los subclones pueden separarse del medio de cultivo, el líquido de ascitis o el suero por procedimientos de purificación convencionales tales como, por ejemplo, proteína-A, cromatografía de hidroxilapatito, electroforesis en gel, diálisis o cromatografía de afinidad.

Los fragmentos de anticuerpos que reconocen epítomos específicos pueden generarse por técnicas conocidas. Por ejemplo, los fragmentos Fab y F(ab')₂ pueden producirse por escisión proteolítica de moléculas de inmunoglobulina, usando enzimas tales como papaína (para producir fragmentos Fab) o pepsina (para producir fragmentos F(ab')₂). Los fragmentos F(ab')₂ contienen la región variable, la región constante de cadena ligera y el dominio C_H1 de la cadena pesada.

Los expertos en la materia también observarán que el ADN que codifica anticuerpos o fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, sitios de unión a antígenos) también puede obtenerse de bibliotecas de anticuerpos, tales como bibliotecas de presentación de fagos. En particular, dicho fago puede usarse para presentar dominios de unión a

antígenos expresados a partir de un repertorio o una biblioteca de anticuerpos combinatoria (por ejemplo, humana o murina). El fago que expresa un dominio de unión a antígeno que se une al antígeno de interés puede seleccionarse o identificarse con el antígeno, por ejemplo, usando un antígeno marcado o un antígeno unido o capturado en una superficie sólida o perla. Los fagos usados en estos procedimientos son normalmente fagos filamentosos que incluyen dominios de unión M13 y fd expresados a partir del fago con Fab, Fv OE DAB (región Fv individual de cadenas ligeras o pesadas) o Fv dominios de anticuerpos Fv estabilizados con disulfuro fusionados de forma recombinante con el gen de gen III de fago o la proteína del gen VIII. Se exponen procedimientos ilustrativos, por ejemplo, en el documento EP-368.684-B1; la patente de EE. UU. 5.969.108, Hoogenboom, H.R. y Chames, *Immunol. Today* 21:371 (2000); Nagy *et al.* *Nat. Med.* 8:801 (2002); Huie *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:2682 (2001); Lui *et al.*, *J. Mol. Biol.* 315:1063 (2002). Varias publicaciones (por ejemplo, Marks *et al.*, *Bio/Technology* 10:779-783 (1992)) han descrito la producción de anticuerpos humanos de alta afinidad por redistribución de cadenas, así como infección combinatoria y recombinación *in vivo* como una estrategia para construir grandes bibliotecas de fagos. En otro caso, puede usarse presentación ribosómica para sustituir los bacteriófagos en la plataforma de presentación (véase, por ejemplo, Hanes *et al.*, *Nat. Biotechnol.* 18:1287 (2000); Wilson *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:3750 (2001); o Irving *et al.*, *J. Immunol. Methods* 248:31 (2001)). En otro caso más, puede realizarse una detección selectiva de bibliotecas de superficies celulares en busca de anticuerpos (Boder *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:10701 (2000); Daugherty *et al.*, *J. Immunol. Methods* 243:211 (2000)). Estos procedimientos proporcionan alternativas a las técnicas de hibridoma tradicionales para el aislamiento y la posterior clonación de anticuerpos monoclonales.

En procedimientos de presentación de fagos, los dominios de anticuerpos funcionales se presentan en la superficie de partículas de fagos que transportan las secuencias de polinucleótidos que los codifican. Por ejemplo, las secuencias de ADN que codifican las regiones V_H y V_L son amplificadas a partir de bibliotecas de ADNc de animales (por ejemplo, bibliotecas de ADNc humanas o murinas de tejidos linfoides) o bibliotecas de ADNc sintéticas. En algunos casos, los ADN que codifica las regiones V_H y V_L están unidos entre sí por un enlazador de scFv mediante PCR y se clonan en un vector fagémido (por ejemplo, p CANTAB 6 o pComb 3 HSS). El vector se somete a electroporación en *E. coli* y la *E. coli* está infectada con un fago auxiliar. Los fagos usados en estos procedimientos suelen ser fagos filamentosos que incluyen fd y M13 y las regiones V_H o V_L normalmente se fusionan de forma recombinante con cualquiera de los genes III o VIII de fagos. El fago que expresa un dominio de unión a antígeno que se une a un antígeno de interés (es decir, un polipéptido Sp35 o un fragmento del mismo) puede seleccionarse o identificarse con antígeno, por ejemplo, usando antígeno marcado o un antígeno unido o capturado en una superficie sólida o perla.

Entre los ejemplos adicionales de procedimientos de presentación de fagos que pueden usarse para preparar los anticuerpos se incluyen los descritos en Brinkman *et al.*, *J. Immunol. Methods* 182:41-50 (1995); Ames *et al.*, *J. Immunol. Methods* 184:177-186 (1995); Kettleborough *et al.*, *Eur. J. Immunol.* 24:952-958 (1994); Persic *et al.*, *Gene* 187:9-18 (1997); Burton *et al.*, *Advances in Immunology* 57:191-280 (1994); las publicaciones PCT WO-1992/001047, WO-90/02809; WO-91/10737; WO-92/01047; WO-92/18619; WO-93/11236; WO-95/15982; WO-95/20401; y las patentes de EE. UU. n° 5.698.426; 5.223.409; 5.403.484; 5.580.717; 5.427.908; 5.750.753; 5.821.047; 5.571.698; 5.427.908; 5.516.637; 5.780.225; 5.658.727; 5.733.743 y 5.969.108.

Tal como se describe en las referencias anteriores, después de la selección de fagos, las regiones codificantes de anticuerpos del fago pueden aislarse y usarse para generar anticuerpos completos, incluidos anticuerpos humanos, o cualquier otro fragmento de unión a antígeno deseado, y expresarse en cualquier hospedador deseado, lo que incluye células de mamíferos, células de insectos, células de plantas, levaduras y bacterias. Por ejemplo, también pueden emplearse técnicas para producir de forma recombinante fragmentos Fab, Fab' y F(ab')₂ usando procedimientos conocidos en la técnica tales como los descritos en la publicación PCT WO-92/22.324; Mullinax *et al.*, *BioTechniques* 12(6):864-869 (1992); y Sawai *et al.*, *AJRI* 34:26-34 (1995); y Better *et al.*, *Science* 240:1041-1043 (1988).

Los ejemplos de técnicas que pueden usarse para producir Fv y anticuerpos de cadena única incluyen las descritas en las patentes de EE. UU. n° 4.946.778 y 5.258.498; Huston *et al.*, *Methods in Enzymology* 203:46-88 (1991); Shu *et al.*, *PNAS* 90:7995-7999 (1993); y Skerra *et al.*, *Science* 240:1038-1040 (1988). Para algunos usos, incluido el uso *in vivo* de anticuerpos en seres humanos y ensayos de detección *in vitro*, puede ser preferible usar anticuerpos quiméricos, humanizados o humanos. Un anticuerpo quimérico es una molécula en la que diferentes partes del anticuerpo se obtienen de diferentes especies animales, tales como anticuerpos que tienen una región variable obtenida de un anticuerpo monoclonal murino y una región constante de inmunoglobulina humana. Los procedimientos para producir anticuerpos quiméricos son conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Morrison, *Science* 229:1202 (1985); Oi *et al.*, *BioTechniques* 4:214 (1986); Gillies *et al.*, *J. Immunol. Methods* 125:191-202 (1989); las patentes de EE. UU. n° 5.807.715; 4.816.567; y 4.816.397. Los anticuerpos humanizados son moléculas

de anticuerpos obtenidas de un anticuerpo de especie no humana que se unen al antígeno deseado que tiene una o más regiones de determinación de complementariedad (CDR) de la especie no humana y regiones marco de una molécula de inmunoglobulina humana. A menudo, los residuos marco en las regiones marco humanas estarán sustituidos por el residuo correspondiente del anticuerpo donador de CDR para alterar, preferentemente mejorar, la unión a antígeno. Estas sustituciones marco se identifican por procedimientos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, por modelización de las interacciones de la CDR y los residuos marco para identificar residuos marco importantes para unión a antígeno y comparación de secuencias con el fin de identificar residuos marco no habituales en posiciones determinadas. (Véase, por ejemplo, Queen *et al.*, patente de EE. UU. n° 5.585.089; Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323 (1988).) Los anticuerpos pueden humanizarse usando diversas técnicas conocidas en la técnica que incluyen, por ejemplo, injerto de CDR (documento EP-239.400; publicación PCT WO-91/09.967; patentes de EE. UU. n° 5.225.539; 5.530.101; y 5.585.089), recubrimiento o recomposición (documentos EP-592.106; EP-519.596; Padlan, *Molecular Immunology* 28(4/5):489-498 (1991); Studnicka *et al.*, *Protein Engineering* 7(6):805-814 (1994); Roguska. *et al.*, *PNAS* 91:969-973 (1994)) e intercambio de cadenas (patente de EE. UU. n° 5.565.332).

Los anticuerpos completamente humanos son deseables en particular para tratamiento terapéutico de pacientes humanos. Los anticuerpos humanos pueden prepararse mediante diversos procedimientos conocidos en la técnica que incluyen los procedimientos de presentación de fagos descritos anteriormente usando bibliotecas de anticuerpos obtenidas de secuencias de inmunoglobulina humana. Véanse también las patentes de EE. UU. n° 4.444.887 y 4.716.111; y las publicaciones PCT WO-98/46645, WO-98/50433, WO-98/24893, WO-98/16654, WO-96/34096, WO-96/33735 y WO-91/10741.

Los anticuerpos humanos también pueden producirse usando ratones transgénicos que son incapaces de expresar inmunoglobulinas endógenas funcionales, pero que pueden expresar genes de inmunoglobulina humana. Por ejemplo, pueden introducirse complejos génicos de inmunoglobulinas humanas de cadena pesada y ligera aleatoriamente o por recombinación homóloga en células madre embrionarias de ratón. Alternativamente, la región variable, la región constante y la región de diversidad humanas pueden introducirse en células madre embrionarias de ratón además de los genes de cadena pesada y ligera humanos. Los genes de inmunoglobulina de cadena pesada y ligera de ratón pueden volverse no funcionales por separado o simultáneamente con la introducción de loci de inmunoglobulina humana por recombinación homóloga. En particular, la delección homocigota de la región JH impide la producción de anticuerpos endógenos. Las células madre embrionarias modificadas se expanden y se microinyectan en blastocistos para producir ratones quiméricos. A continuación, se crían los ratones quiméricos para producir descendencia homocigota que expresa anticuerpos humanos. Los ratones transgénicos son inmunizados de la forma normal con un antígeno seleccionado, por ejemplo, parte o la totalidad de un polipéptido diana deseado. Los anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno pueden obtenerse de ratones transgénicos inmunizados usando tecnología de hibridomas convencional. Los transgenes de inmunoglobulina humana alojados por los ratones transgénicos se reordenan durante la diferenciación de linfocitos B, y posteriormente se someten a cambio de clase y mutación somática. Así, usando dicha técnica, es posible producir anticuerpos IgG, IgA, IgM e IgE terapéuticamente útiles. Para una visión general de esta tecnología para producir anticuerpos humanos véase Lonberg y Huszar *Int. Rev. Immunol.* 13:65-93 (1995). Para una exposición detallada de esta tecnología para producir humanos y anticuerpos monoclonales humanos y protocolos para producir dichos anticuerpos, véanse, por ejemplo, las publicaciones PCT WO-98/24893; WO-96/34096; WO-96/33735; las patentes de EE. UU. n° 5.413.923; 5.625.126; 5.633.425; 5.569.825; 5.661.016; 5.545.806; 5.814.318; y 5.939.598. Además, empresas tales como Abgenix, Inc. (Freemont, Calif.) y GenPharm (San Jose, Calif.) pueden comprometerse para proporcionar anticuerpos humanos dirigidos contra un antígeno seleccionado usando una tecnología similar a la descrita anteriormente.

Los anticuerpos completamente humanos que reconocen un epítipo seleccionado pueden generarse usando una técnica referida como "selección guiada". En este enfoque se usa un anticuerpo monoclonal no humano seleccionado, por ejemplo, un anticuerpo de ratón, para guiar la selección de un anticuerpo completamente humano que reconoce el mismo epítipo. (Jespers *et al.*, *Bio/Technology* 12:899-903 (1988). Véase también la patente de EE. UU. n° 5.565.332.)

Además, los anticuerpos para polipéptidos diana de la descripción pueden usarse, a su vez, para generar anticuerpos anti-idiotipo que "imitan" los polipéptidos diana usando técnicas bien conocidas para los expertos en la materia. (Véase, por ejemplo, Greenspan & Bona, *FASEB J.* 7(5):437-444 (1989) y Nissinoff, *J. Immunol.* 147(8):2429-2438 (1991)). Por ejemplo, pueden usarse anticuerpos que se unen a e inhiben competitivamente la multimerización de polipéptidos y/o la unión de un polipéptido de la descripción con un ligando para generar anti-idiotipos que "imitan" la multimerización de polipéptidos y/o un dominio de unión y, como consecuencia, se unen a y neutralizan un polipéptido y/o su ligando. Dichos anti-idiotipos de neutralización o fragmentos Fab de dichos anti-

idiotipos pueden usarse en pautas terapéuticas para neutralizar un ligando de polipéptido. Por ejemplo, dichos anticuerpos anti-idiotípicos pueden usarse para unirse a un polipéptido diana deseado y/o para unirse a sus ligandos/receptores, y bloquear así su actividad biológica.

- 5 El ADN que codifica los anticuerpos monoclonales deseados puede aislarse y secuenciarse fácilmente usando procedimientos convencionales (por ejemplo, usando sondas de oligonucleótidos que son capaces de unirse específicamente a genes que codifican las cadenas pesadas y ligeras de anticuerpos murinos). Las células de hibridoma aisladas y subclonadas sirven de fuente preferente de dicho ADN. Una vez aislado, el ADN puede colocarse en vectores de expresión, que, a continuación, son transfectados en células hospedadoras procariontas o eucariotas tales como células de *E. coli*, células COS de simio, células de ovario de hámster chino (CHO) o células de mieloma que no producen inmunoglobulinas. Más en particular, el ADN aislado (que puede ser sintético tal como se describe en el presente documento) puede usarse para clonar secuencias de regiones variables y constantes para la fabricación de anticuerpos tal como se describe en Newman *et al.*, patente de EE. UU. n° 5.658.570, presentada el 25 de enero de 1995. Esencialmente, esto comprende la extracción de ARN de las células seleccionadas, la conversión a ADNc y la amplificación por PCR usando cebadores de Ig específicos. Los cebadores adecuados para este fin se describen también en la patente de EE. UU. n° 5.658.570. Tal como se expondrá con más detalle más adelante, las células transformadas que expresan el anticuerpo deseado pueden cultivarse en cantidades relativamente grandes para proporcionar suministros clínicos y comerciales de la inmunoglobulina.
- 20 En un caso, un anticuerpo Sp35 de la descripción comprende al menos una CDR de cadena pesada o ligera de una molécula de anticuerpo. En otro caso, un anticuerpo Sp35 de la descripción comprende al menos dos CDR de una o más moléculas de anticuerpo. En otro caso, un anticuerpo Sp35 de la descripción comprende al menos tres CDR de una o más moléculas de anticuerpo. En otro caso, un anticuerpo Sp35 de la descripción comprende al menos cuatro CDR de una o más moléculas de anticuerpo. En otro caso, un anticuerpo Sp35 de la descripción comprende al menos cinco CDR de una o más moléculas de anticuerpo. En otro caso, un anticuerpo Sp35 de la descripción comprende al menos seis CDR de una o más moléculas de anticuerpo. Las moléculas de anticuerpo de ejemplo que comprenden al menos una CDR que pueden incluirse en los anticuerpos Sp35 objeto se describen en el presente documento.
- 30 En un caso concreto, la secuencia de aminoácidos de los dominios variables de cadena pesada y/o ligera pueden ser inspeccionados para identificar las secuencias de las regiones de determinación de complementariedad (CDR) por procedimientos que son bien conocidos en la técnica, por ejemplo, por comparación con secuencias de aminoácidos conocidas de otras regiones variables de cadena pesada y ligera para determinar la hipervariabilidad de las regiones de secuencia. Usando técnicas rutinarias de ADN recombinante, pueden insertarse una o más de las CDR dentro de las regiones marco, por ejemplo, en regiones marco humanas para humanizar un anticuerpo no humano. Las regiones marco pueden aparecer naturalmente o ser regiones marco de consenso, y preferentemente regiones marco humanas (véase, por ejemplo, en Chothia *et al.*, *J. Mol. Biol.* 278:457-479 (1998) un listado de las regiones marco humanas). Preferentemente, el polinucleótido generado por la combinación de las regiones marco y las CDR codifica un anticuerpo que se une específicamente a al menos un epítipo de un polipéptido deseado, por ejemplo, Sp35. Preferentemente, pueden prepararse una o más sustituciones de aminoácidos en las regiones marco, y, preferentemente, las sustituciones de aminoácidos mejoran la unión del anticuerpo con su antígeno. Además, dichos procedimientos pueden usarse para hacer sustituciones o deleciones de aminoácidos de uno o más residuos de cisteína de región variable que participan en enlace disulfuro intracadena para generar moléculas de anticuerpo que carecen de uno o más enlaces disulfuro intracadena. Otras alteraciones en el polinucleótido están comprendidas por la presente descripción y se sitúan dentro de las competencias de la técnica.
- Además, pueden usarse técnicas desarrolladas para la producción de "anticuerpos quiméricos" (Morrison *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81:851-855 (1984); Neuberger *et al.*, *Nature* 312:604-608 (1984); Takeda *et al.*, *Nature* 314:452-454 (1985)) por splicing de genes de una molécula de anticuerpo de ratón de especificidad de antígeno adecuada junto con genes de una molécula de anticuerpo humano de actividad biológica apropiada. Tal como se usa en el presente documento, un anticuerpo quimérico es una molécula en la que diferentes partes se obtienen de diferentes especies animales, por ejemplo, las que tienen una región variable derivada de un anticuerpo monoclonal murino y una región constante de inmunoglobulina humana, por ejemplo, anticuerpos humanizados.
- 55 Alternativamente, pueden adaptarse las técnicas descritas para la producción de anticuerpos monocatenarios (patente de EE. UU. n° 4.694.778; Bird, *Science* 242:423-442 (1988); Huston *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883 (1988); y Ward *et al.*, *Nature* 334:544-554 (1989)) para producir anticuerpos monocatenarios. Los anticuerpos monocatenarios están formados por la unión de los fragmentos de cadena pesada y ligera de la región Fv por medio de un puente de aminoácidos, para dar lugar a un anticuerpo monocatenario. También pueden usarse técnicas para el ensamblaje de fragmentos Fv funcionales en *E. coli* (Skerra *et al.*, *Science* 242:1038-1041 (1988)).

Otros casos más de la presente descripción comprenden la generación de anticuerpos humanos o sustancialmente humanos en animales transgénicos (por ejemplo, ratones) que son incapaces de una producción endógena de inmunoglobulinas (véanse, por ejemplo, las patentes de EE. UU. n° 6.075.181, 5.939.598, 5.591.669 y 5.589.369).

- 5 Por ejemplo, se ha descrito que la delección homocigota de la región de unión a la cadena pesada del anticuerpo en ratones mutantes de línea germinal y quiméricos produce la inhibición completa de la producción endógena de anticuerpos. La transferencia de una matriz de genes de inmunoglobulina humana a dichos ratones mutantes de línea germinal llevará a la producción de anticuerpos humanos tras la provocación con antígeno. Otro medio preferente de generación de anticuerpos humanos usando ratones SCID se describe en la patente de EE. UU. n°
10 5.811.524. Se observará que el material genético asociado con estos anticuerpos humanos también puede aislarse y manipularse tal como se describe en el presente documento.

- Otro medio altamente eficiente más para generar anticuerpos recombinantes es el descrito por Newman, *Biotechnology* 10: 1455-1460 (1992). Específicamente, esta técnica produce la generación de anticuerpos
15 primatizados que contienen dominios variables y secuencias constantes humanas. Por otra parte, esta técnica se describe también en las patentes de EE. UU. cedidas comúnmente n° 5.658.570, 5.693.780 y 5.756.096.

- En otro caso, los linfocitos pueden seleccionarse por micromanipulación y aislarse los genes variables. Por ejemplo, las células mononucleares de sangre periférica pueden aislarse a partir de un mamífero inmunizado y cultivarse
20 durante aproximadamente 7 días *in vitro*. Los cultivos pueden cribarse de acuerdo con IgG específicas que cumplan los criterios de cribado. Pueden aislarse las células de los pocillos positivos. Los linfocitos B de producción de Ig pueden aislarse por FACS o identificándolos en un ensayo de placa hemolítica mediada por complemento. Los linfocitos B que producen Ig pueden micromanipularse en un tubo y los genes V_H y V_L pueden amplificarse usando, por ejemplo, RT-PCR. Los genes V_H y V_L pueden clonarse en un vector de expresión de anticuerpos y transfectarse
25 en células (por ejemplo, células eucariotas o procariotas) para su expresión.

- Alternativamente, las líneas celulares de producción de anticuerpos pueden seleccionarse y cultivarse usando técnicas bien conocidas para el experto en la materia. Dichas técnicas se describen en diversos manuales de laboratorio y publicaciones primarias. A este respecto, las técnicas adecuadas para su uso en la descripción tal
30 como se describe más adelante se describen en *Current Protocols in Immunology*, Coligan *et al.*, Eds., Green Publishing Associates and Wiley-Interscience, John Wiley and Sons, Nueva York (1991).

- Los anticuerpos para el uso en los procedimientos diagnósticos y terapéuticos descritos en el presente documento pueden producirse por cualquier procedimiento conocido en la técnica para la síntesis de anticuerpos, en particular,
35 por síntesis química o preferentemente, por técnicas de expresión recombinante tal como se describe en el presente documento.

- En un caso, un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo de la descripción comprende una región constante sintética donde uno o más dominios están total o parcialmente suprimidos
40 ("anticuerpos con supresión de dominios"). En algunos casos los anticuerpos modificados compatibles comprenderán construcciones con supresión de dominios o variantes donde todo el dominio C_{H2} haya sido eliminado (construcciones ΔC_{H2}). En otros casos puede sustituirse un péptido de conexión corto mediante el dominio suprimido para proporcionar flexibilidad y libertad de movimiento para la región variable. Los expertos en la materia observarán que dichas construcciones son preferentes especialmente debido a las propiedades reguladoras del
45 dominio C_{H2} en la velocidad catabólica del anticuerpo. Las construcciones con supresión de dominios pueden obtenerse usando un vector (por ejemplo, de Biogen IDEC Incorporated) que codifica un dominio constante de IgG₁ humana (véanse, por ejemplo, los documentos WO-02/060.955-A2 y WO02/096.948-A2). Este vector de ejemplo fue diseñado para suprimir el dominio C_{H2} y proporcionar un vector sintético que exprese una región constante de IgG₁ con supresión de dominios.
50

En algunos casos, los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción son minicuerpos. Los minicuerpos pueden prepararse usando procedimientos descritos en la técnica (véase, por ejemplo, por ejemplo, la patente de EE. UU. 5.837.821 o el documento WO-94/09817 A1).

- 55 En un caso, un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo de la descripción comprende una cadena pesada de inmunoglobulina que tiene una delección o sustitución de algunos o incluso de un solo aminoácido siempre que permita la asociación entre las subunidades monoméricas. Por ejemplo, la mutación de un único aminoácido en áreas seleccionadas del dominio C_{H2} puede ser suficiente para reducir sustancialmente la unión a Fc y con ello aumentar la localización del tumor. De forma similar, puede ser deseable simplemente suprimir
60 esa parte de uno o más dominios de región constante que controlan la función efectora (por ejemplo, unión de

complemento) que se modulará. Dichas deleciones parciales de las regiones constantes pueden mejorar las características seleccionadas del anticuerpo (semivida en suero) mientras se dejan intactas otras funciones deseables asociadas con el dominio de región constante objeto. Por otra parte, tal como se alude anteriormente, las regiones constantes de los anticuerpos descritos pueden ser sintéticas a través de la mutación o sustitución de uno o más aminoácidos que potencia el perfil de la construcción resultante. A este respecto puede ser posible desorganizar la actividad proporcionada por un sitio de unión conservado (por ejemplo, unión a Fc) mientras se mantiene sustancialmente la configuración y el perfil inmunogénico del anticuerpo modificado. Otros casos más comprenden la adición de uno o más aminoácidos a la región constante para mejorar las características deseables tales como la función efectora o proporcionar más fijación a citotoxinas o hidratos de carbono. En estos casos puede ser deseable introducir o replicar secuencias específicas derivadas de dominios de región constante seleccionados.

La presente descripción también proporciona anticuerpos que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en, variantes (incluidos derivados) de moléculas de anticuerpo (por ejemplo, las regiones V_H y/o regiones V_L) descritas en el presente documento, donde los anticuerpos o fragmentos de los mismos se unen inmuno-específicamente a un polipéptido Sp35 o fragmento o variante del mismo. Pueden usarse técnicas estándar conocidas por los expertos en la materia para introducir mutaciones en la secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo Sp35, lo que incluye, pero no se limita a, mutagénesis dirigida al sitio y mutagénesis mediada por PCR que da lugar a sustituciones de aminoácidos. Preferentemente, las variantes (incluidos los derivados) codifican menos de 50 sustituciones de aminoácidos, menos de 40 sustituciones de aminoácidos, menos de 30 sustituciones de aminoácidos, menos de 25 sustituciones de aminoácidos, menos de 20 sustituciones de aminoácidos, menos de 15 sustituciones de aminoácidos, menos de 10 sustituciones de aminoácidos, menos de 5 sustituciones de aminoácidos, menos de 4 sustituciones de aminoácidos, menos de 3 sustituciones de aminoácidos o menos de 2 sustituciones de aminoácidos con respecto a la región de referencia V_H , V_H CDR1, V_H CDR2, V_H CDR3, la región V_L , V_L CDR1, V_L CDR2 o V_L CDR3. Una "sustitución de aminoácidos conservadora" es aquella en la que el residuo de aminoácido es sustituido por un residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral con una carga similar. Las familias de residuos de aminoácidos que tienen cadenas laterales con cargas similares se han definido en la técnica. Estas familias incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares no cargadas (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales beta-ramificadas (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina). Alternativamente, las mutaciones pueden introducirse aleatoriamente a lo largo de parte o la totalidad de la secuencia codificante, tales como por mutagénesis de saturación, y los mutantes resultantes pueden cribarse en cuanto a su actividad biológica para identificar mutantes que conservan la actividad (por ejemplo, la capacidad de unirse a un polipéptido Sp35).

Por ejemplo, es posible introducir mutaciones solo en las regiones marco o solo en las regiones CDR de una molécula de anticuerpo. Las mutaciones introducidas pueden ser mutaciones de sentido erróneo silenciosas o neutras, es decir, que tienen un efecto reducido o nulo en la capacidad de un anticuerpo de unirse a antígeno. Estos tipos de mutaciones pueden ser útiles para optimizar el uso de codones, o mejorar la producción de anticuerpos de hibridomas. Alternativamente, las mutaciones de sentido erróneo no neutras pueden alterar la capacidad de un anticuerpo de unirse a antígeno. La posición de la mayoría de las mutaciones de sentido erróneo silenciosas o neutras será probablemente en las regiones marco, mientras que la posición de la mayoría de las mutaciones de sentido erróneo no neutras será probablemente en una CDR, aun cuando este no es un requisito absoluto. Un experto en la materia sería capaz de diseñar y probar moléculas mutantes con propiedades deseadas tales como no alteración en la actividad de unión a antígeno o alteración en la actividad de unión (por ejemplo, mejoras en la actividad de unión a antígeno o cambio en la especificidad de un anticuerpo). Después de la mutagénesis, la proteína codificada puede expresarse de forma rutinaria y puede determinarse la actividad funcional y/o biológica de la proteína codificada (por ejemplo, capacidad de unirse inmuno-específicamente a al menos un epítipo de un polipéptido Sp35) usando técnicas descritas en el presente documento o mediante técnicas de modificación rutinarias conocidas en la técnica.

IV. POLINUCLEÓTIDOS QUE CODIFICAN ANTICUERPOS Sp35

La presente descripción también proporciona para moléculas de ácidos nucleicos que codifican anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción.

En un caso, la presente descripción proporciona un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H), donde al menos una de las CDR de la región variable de cadena pesada o al menos dos de las CDR de la región

variable de cadena pesada tienen al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con las secuencias de aminoácidos de cadena pesada de referencia CDR1, CDR2 o CDR3 a partir de los anticuerpos monoclonales Sp35 descritos en el presente documento. Alternativamente, las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de la VH tienen al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con las secuencias de aminoácidos de cadena pesada de referencia CDR1, CDR2 y CDR3 a partir de los anticuerpos monoclonales Sp35 descritos en el presente documento. Así, de acuerdo con este aspecto una región variable de cadena pesada de la descripción tiene secuencias de polipéptidos de CDR1, CDR2, o CDR3 relacionadas con las secuencias de polipéptidos mostradas en la tabla 4:

TABLA 4: Secuencias de aminoácidos de referencia CDR1, CDR2 y CDR3 de VH*

Nombre de anticuerpo	VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3
Li10	P=TYPMV (SEQ ID NO: 6)	P=WIGPSGGVTAYADSVKQ (SEQ ID NO: 8)	P=PYSSGWWDIDL (SEQ ID NO: 10)
	N=ACTTACCCTATGGT (SEQ ID NO: 5)	N=TGGATCGGTCCTTCT GGTGGCGTTACTGCTTA TGCTGACTCCGTTAAAGGT (SEQ ID NO:7)	N=CCCTATAGCAGTGGCT GGTGGGACTTCGATCTC (SEQ ID NO:9)
Li07	P=MYFMG (SEQ ID NO: 12)	P=SISPSGGFTSYADSVKQ (SEQ ID NO: 14)	P=DRHAFDI (SEQ ID NO: 16)
	N=ATGTACTTTTATGGG (SEQ ID NO: 11)	N=TCTATCTCTCCTTCTGGTGGCTTTAC TTCTTATGCTGACTCCGTTAAAGGT (SEQ ID NO:13)	N=GATCGGCATGCTTTTGATATC (SEQ ID NO: 15)
Li05	P=AYAMG (SEQ ID NO: 18)	P=SIVSSGGYTDYADSVKQ (SEQ ID NO: 20)	P=EGDHNAFDI (SEQ ID NO: 22)
	N=CTTACGCTATGGGT (SEQ ID NO: 17)	N=TCTATCGTTCCTCTGGTGGCT ATACTGATTATGCTGACTCCGTT AAAGGT (SEQ ID NO:19)	N=GAGGGTGACCATAATGCTTTT GATATC (SEQ ID NO:21)
Li11	P=SYAMY (SEQ ID NO: 24)	P=SISTSGGYTGYADSVKQ (SEQ ID NO: 26)	P=DTSNDNDYYMDV (SEQ ID NO: 28)
	N=TCTTACGCTATGTA (SEQ ID NO: 23)	N=TCTATCTCTACTTCTGGTGGCTA TACTGGTATGCTGACTCCGTTAAAG GT (SEQ ID NO:25)	N=GATACCAGCGATAATGAC TACTACTACATGGACGTC (SEQ ID NO:27)

Li01	P=KYQMT (SEQ ID NO: 30) N=AAGTACCAGATG ACT (SEQ ID NO:29)	P=SIYPSGGNTVYADSVKG (SEQ ID NO: 32) N=TCTATCTATCCTTCTGGTGCAA TACTGTTTATGCTGACTCCGTTAA AGGT (SEQ ID NO:31)	P=GTTEAVFDY (SEQ ID NO: 34)
Li12	P=QYNMF (SEQ ID NO: 36) N= CAGTACAATATG TT (SEQ ID NO:35)	P=RISSGGMTMYADSVKG (SEQ ID NO: 38) N= CGTATCTCTTCTTCTGGTGCCAT GACTATGTATGCTGACTCCGTTAAA GGT (SEQ ID NO:37)	P=EALRPYCSGGSCYSDYYYGMDV (SEQ ID NO: 40) N= GAAGCGTTACGGCCTTATTG TAGTGGTGTAGCTGCTACTCCG ACTACTACTACGGTATGGAC GTC (SEQ ID NO:39)
Li06	P=EYPMD (SEQ ID NO: 42) N=GAGTACCCTATGG AT (SEQ ID NO:41)	P=SIYSSGGSTVYADSIKG (SEQ ID NO: 44) N=TCTATCTATCTTCTGGTGCCAT TACTGTTTATGCTGACTCCATTA AGGT (SEQ ID NO:43)	P=EGSDAFDI (SEQ ID NO: 46) N=GAGGGTGACTCTGATGCTTTT GATATC (SEQ ID NO:45)
Li08	P=HYEMV (SEQ ID NO: 48) N= CATTACGAGATGG TT (SEQ ID NO:47)	P=SIRSSGGATKYA DSVKG (SEQ ID NO:50) N= TCTATCCGTTCTTCTGGTGCCGCT ACTAAGTATGCTGACTCCGTTAAAG GT (SEQ ID NO:49)	P=ESPDDYFDY (SEQ ID NO: 52) N= GAGTCCCAGACGACTACTTT GACTAC (SEQ ID NO:51)
Li03	P=QYPME (SEQ ID NO: 54)	P=GIYPSGGSTVYADSVKG (SEQ NO: 56)	P=AGQWLGFDFY (SEQ ID NO: 58)

<p>N=CAGTACCCTATG GAG (SEQ ID NO:53)</p>	<p>N=GGTATCTATCCCTTCTGGTGGCTCTA CTGTTTATGCTGACTCCCGTTAAAGGT (SEQ ID NO:55)</p>	<p>N=GCCGGGCAGTGGCTGGGGGAC TTTGACTAC (SEQ ID NO:57)</p>
<p>P=MYSMV (SEQ ID NO: 60)</p>	<p>P=YISPSGGKTMVADSVKG (SEQ ID NO: 62)</p>	<p>P=DSRRRYYDFWVSGYHNYYYYYM DV (SEQ ID NO:64)</p>
<p>N=ATGTA CTCTATGG TT (SEQ ID NO:59)</p>	<p>N=TATATCTCTCCTTCTGGTGGCAAG ACTATGTATGCTGACTCCGTTAAAGGI (SEQ ID NO:61)</p>	<p>N=GATTCGAGACGCCGGTATTACG ATTTTGGAGTGGTTATCACAACATA CTACTACTACTACATGGACGTC (SEQ ID NO:63)</p>
<p>P=RYNMG (SEQ ID NO: 66)</p>	<p>P=VIYPSGGGTHVADSVKG (SEQ ID NO: 68)</p>	<p>P=SIADDAFDI (SEQ ID NO: 70)</p>
<p>N=CGTTACAATATGG GT (SEQ ID NO:65)</p>	<p>N=GTTATCTATCCCTTCTGGTGGCGGT ACTCATTATGCTGACTCCGTTAAAGGI (SEQ ID NO:67)</p>	<p>N=TCTATAGCAGATGATGCTTTTGA TATC (SEQ ID NO:69)</p>
<p>P=TYEMI (SEQ ID NO: 72)</p>	<p>P=SIGPSGGLTWVADSVKG (SEQ ID NO: 74)</p>	<p>P=MYYCVRIDSSGWAFDI (SEQ ID NO: 76)</p>
<p>N=ACTTACGAGATG ATT (SEQ ID NO:71)</p>	<p>N=TCTATCGGTCCTTCTGGTGGCC TTACTTGGTATGCTGACTCCCGTTAAA (SEQ ID NO:73)</p>	<p>N=ATGTATTACTGTGTACGGATTGA TGATAGTAGTGGTTGGCTTTTGTGAT ATC (SEQ ID NO:75)</p>

L113	P=HYEMY (SEQ ID NO: 389)	P=RIVSSGGFTKYADSVKG (SEQ ID NO: 390)	P=EGDNDAFDI (SEQ ID NO: 391)
L132	P=AYMMQ (SEQ ID NO: 395)	P=SISPSGGNTKYADSVKG (SEQ ID NO: 396)	P=GDIYGYWFDP (SEQ ID NO: 397)
L133	P=IYPMF (SEQ ID NO: 401)	P=WIGPSSGGITKYADSVKG (SEQ ID NO: 402)	P=EGHNDWYFDL (SEQ ID NO: 403)
L134	P=NYEMY (SEQ ID NO: 407)	P=GIYSSGGITVYADSVKG (SEQ ID NO: 408)	P=AAILDWYFDL (SEQ ID NO: 409)
1A7	P=NYGMN (SEQ ID NO: 77)	P=WINTDTGEPTYTEDFQG (SEQ ID NO: 78)	P=EGVHFDY (SEQ ID NO: 79)
2F3	P=FSDAWLD (SEQ ID NO: 80)	P=EIRSKANNHATNYAESVKG (SEQ ID NO: 81)	P=SFAY (SEQ ID NO: 82)
3P1D10.2C3 y 3P1E11.3B7	P=SSWTQ (SEQ ID NO: 83)	P=AIYPGDGDTRYTQKFKG (SEQ ID NO: 84)	P=HNSYGM DY (SEQ ID NO: 85)
L1a.01	P=GYSFTNYWIG (SEQ ID NO: 195)	P=IIDPDDSYTTYSPSFQG (SEQ ID NO: 196)	P=AEFYWGAYDG (SEQ ID NO: 197)
L1a.02	P=GGSIRGNYS (SEQ ID NO: 198)	P=SINYSGFTNP SLK G (SEQ ID NO: 199)	P=VRHWYFDV (SEQ ID NO: 200)
L1a.03	P=GYTFNGFDMH (SEQ ID NO: 201)	P=WIDPYPNGSTTYAQKFKG (SEQ ID NO: 202)	P=DFYMDGHYYIFDV (SEQ ID NO: 203)
L1a.04	P=GYSFSNYIYH (SEQ ID NO: 204)	P=IIDPGDSFTSYSPSFQG (SEQ ID NO: 205)	P=DLAWIDYGFDY (SEQ ID NO: 206)
L1a.05	P=GFTFTSHTVS (SEQ ID NO: 207)	P=SITGNGSTTYADSVKG (SEQ ID NO: 208)	P=FYGDFDS (SEQ ID NO: 209)
L1a.06	P=GFTFSSNWMS (SEQ ID NO: 210)	P=TIFYSGSSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 211)	P=DLPMKGFQQRYGFDDV (SEQ ID NO: 212)
L1a.07	P=GFTFSGY AIS (SEQ ID NO: 213)	P=TIWGSSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 214)	P=EYWYYDQFTAV (SEQ ID NO: 215)
L1a.08	P=GDSVSSNSA AWS (SEQ ID NO: 216)	P=R IYR SKWYNDYAVSVKS (SEQ ID NO: 217)	P=EVYSAGIMDY (SEQ ID NO: 218)
L1a.09	P=GYSFTNHWIG (SEQ ID NO: 219)	P=IIDPSDSDNTNYS PFQG (SEQ ID NO: 220)	P=GFYGIADTFDV (SEQ ID NO: 221)
L1a.10	P=GYSFTNYWIA (SEQ ID NO: 222)	P=M IY P D D S N T N Y S P S F Q G (SEQ ID NO: 223)	P=TNYLGFYDS (SEQ ID NO: 224)
L1a.11	P=GFTFSDYGIS (SEQ ID NO: 225)	P=N ILY D G S E D A D Y A D S V K G (SEQ ID NO: 226)	P=GYPTDDISFDI (SEQ ID NO: 227)

	NO: 225)	226)	
L1a.12	P=GDSVSDNSAAWG (SEQ ID NO: 228)	P=RYYRSKWYNDYAVSVKS (SEQ ID NO: 229)	P=GRHEYGGLGYAEAMDH (SEQ ID NO: 230)
L1a.13	P=GFTFSSYAMS (SEQ ID NO: 231)	P=AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 232)	P=HYTYMHFEDY (SEQ ID NO: 233)
3B5.2	P=SYWMH (SEQ ID NO: 410)	P=VIDPDSYTNYNQKFRG (SEQ ID NO: 411)	P=PYYGSHWFFDV (SEQ ID NO: 412)
	N=AGCTACTGGATG CAC (SEQ ID NO:424)	N=GTGATTGATCCTTCT GATAGTTAATACTAACAATCAA AAGTTCAGGGGC (SEQ ID NO:425)	N=CCTTACTACGGTAGTCACT GGTCTTCGATGTC (SEQ ID NO:426)
Li81	P= AYEMK (SEQ ID NO: 436)	P= VIGPSSGGFTFYADSVKG (SEQ ID NO: 437)	P=EGDNDAFDI (SEQ ID NO: 438)
	N=GCTTACGAGATGA AG (SEQ ID NO:439)	N=GTTATCGGTCCCTTCTGGTGGCT TTACITTTTATGCTGACTCCGTT AAAGGT (SEQ ID NO:440)	N=GAGGGTGATAATGATGCTTTTGA ATC (SEQ ID NO:441)
*Determinado por el sistema de Kabat (véase más arriba).			
N = secuencia de nucleótidos, P = secuencia polipeptídica.			

En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende la VH codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35.

5 En otro caso, la presente descripción proporciona un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (VH) en la que las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 tienen secuencias de polipéptidos que son idénticas a los grupos CDR1, CDR2 y CDR3 mostrados en la tabla 4. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende la VH codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35.

10 En un caso adicional de la descripción, la presente descripción proporciona un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (VH) en la que las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 son codificadas por secuencias de nucleótidos con al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad con las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de la VH del polipéptido de la cadena pesada de inmunoglobulina producido por el hibridoma 2.P3B5.2 (Designación de Depósito ATCC PTA-8106) o las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de la VH del polipéptido de la cadena pesada de inmunoglobulina producido por el hibridoma 7.P1D5.1.G9 (Designación de Depósito ATCC PTA-8107).

20 En un caso adicional, la presente descripción proporciona un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (VH) en la que las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 son codificadas por secuencias de nucleótidos que son idénticas a las secuencias de nucleótidos que codifican los grupos CDR1, CDR2 y CDR3 mostrados en la tabla 4. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende la VH codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35.

25 En un caso adicional de la descripción, la presente descripción proporciona un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (VH) en la que las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 son codificadas por secuencias de nucleótidos con al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad con el polinucleótido que codifica las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de la VH de la cadena pesada de inmunoglobulina producidas por el hibridoma 2.P3B5.2 (Designación de Depósito ATCC PTA-8106) o el polinucleótido que codifica las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de la VH de la cadena pesada de inmunoglobulina producidas por el hibridoma 7.P1D5.1.G9 (Designación de Depósito ATCC PTA-8107).

35 En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una VH codificada por uno o más de los polinucleótidos descritos anteriormente se une de forma específica o preferente al mismo epítipo que un anticuerpo monoclonal seleccionado de entre el grupo que consiste en: 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li022), 35-E04 (Li033), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495(L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 y Li81, o inhibirá competitivamente dicho anticuerpo monoclonal de la unión a Sp35.

45 En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una VH codificada por uno o más de los polinucleótidos descritos anteriormente se une de forma específica o preferente a un polipéptido Sp35 o un fragmento del mismo, o una variante de polipéptido Sp35, con una afinidad caracterizada por una constante de disociación (K_D) no mayor que 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M, o 10^{-15} M.

55 En otro caso, la presente descripción proporciona un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (VL), donde al menos una de las CDR de la región variable de cadena ligera o al menos dos de las CDR de la región variable de cadena ligera tienen al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 o CDR3 de cadena ligera de referencia de los anticuerpos monoclonales Sp35 descritos en el presente documento. Alternativamente, las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de la VL tienen al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera de referencia de los anticuerpos monoclonales Sp35 descritos en el presente documento. Así, de acuerdo con este aspecto una región variable de cadena ligera de la descripción tiene secuencias de polipéptidos de CDR1,

CDR2, o CDR3 relacionadas con las secuencias de polipéptidos mostradas en la tabla 5:

TABLA 5: Secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 de la VL de referencia*

Nombre de anticuerpo	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
Li10	P=RASQGIGNWLA (SEQ ID NO: 87)	P=AASSLES (SEQ ID NO: 89)	P=QQAQTFPLT (SEQ ID NO: 91)
	N=CGGGCGAGTCAGGG TATTGGCAACTGGTTAG CC (SEQ ID NO:86)	N=GCTGCATCCAGTTTG GAAAGT (SEQ ID NO:88)	N=CAACAGGCTCAGAC TTTCCCGCTCACC (SEQ ID NO:90)
Li07	P=SGDQLGDKHVA (SEQ ID NO: 93)	P=LDIKRPA (SEQ ID NO: 95)	P=QAWDIKTV (SEQ ID NO: 97)
	N=TCTGGAGATCAGTTG GGTGACAAACATGTGG CT (SEQ ID NO:92)	N=CTAGACATTAAG AGGCCCGCA (SEQ ID NO:94)	N=CAGGCGTGGGACATC AGACGGTC (SEQ ID NO:96)
Li05	P=GGDNIGSKSVH (SEQ ID NO: 99)	P=DDYDRPS (SEQ ID NO: 101)	P=QVRDSRTEERV (SEQ ID NO: 103)
	N=GGGGGAGACAACAT TGGAAGTAAGAGTGT CCAC (SEQ ID NO:98)	N=GATGATTATGACC GGCCCTCA (SEQ ID NO:100)	N=CAGGTGAGGGACAGCCG TACTGAGGAACGGGTG (SEQ ID NO:102)
Li11	P=RASQEIANYLA (SEQ ID NO: 105)	P=DTYTLQT (SEQ ID NO: 107)	P=QQADIFPLS (SEQ ID NO: 109)
	N=CGGGCGAGTCAGGAG ATTGCCAACTACTTAGCC (SEQ ID NO:104)	N=GATACATACAC TTTGCAGACT (SEQ ID NO:106)	N=CAACAGGCTGACATTTT CCCGCTCTCT (SEQ ID NO:108)
Li01	P=QASQDISNYLN (SEQ ID NO: 111)	P=DASNLET (SEQ ID NO: 113)	P=QQADRFPVAVT (SEQ ID NO: 115)
	N=CAGGCGAGTCAGGA CATTAGCAACTATTTAAAT (SEQ ID NO:110)	N=GATGCATCCAATT TGAAACA (SEQ ID NO:112)	N=CAACAGGCTGACAGGTTT CCTGCGTCACT (SEQ ID NO:114)
Li06	P=RASQSISSWLA (SEQ ID NO: 117)	P=AASSLRT (SEQ ID NO: 119)	P=LQDISYPLT (SEQ ID NO: 121)
	N=CGGGCCAGTCAGAGTA TTAGTAGCTGGTTGG CC (SEQ ID NO:116)	N=GCTGCATCCAGT TTACGAACT (SEQ ID NO:118)	N=CTACAAGATTACAGTTAC CCTCTCACT (SEQ ID NO:120)
Li08	P=QASQDISYYLN (SEQ ID NO: 123)	P=DVSNLQT (SEQ ID NO: 125)	P=QQSDNLPLT (SEQ ID NO: 127)
	N=CAGGCGAGTCAGGAC ATTAGTTACTATTT AAAT (SEQ ID NO:122)	N=GATGTATCCAAT TTGAAACA (SEQ ID NO:124)	N=CAACAGTCTGATA ATCTCCCTCTCACT (SEQ ID NO:126)
Li03	P=RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 123)	P=AASSLQS (SEQ ID NO: 125)	P=QQSYSTPWT (SEQ ID NO: 127)

ES 2 673 153 T3

	129)	131)	133)
	N=GGGCAAGTCAGAGC ATTAGCAGCTATTTA AAT (SEQ ID NO:128)	N=GCTGCATCCAG TTTGCAAAGT (SEQ ID NO:130)	N=CAACAGAGTTACA GTACCCCGTGGACG (SEQ ID NO:132)
Li09	P=RASQSIDTYLN (SEQ ID NO: 135)	P=AASKLED (SEQ ID NO: 137)	P=QQSYSPPLT (SEQ ID NO: 139)
	N=CGCGCAAGTCAGA GCATCGACACCTATT TAAAT (SEQ ID NO:134)	N=GCTGCATCCAA GTTGGAAGAC (SEQ ID NO:136)	N=CAACAGAGTTACAG TCCCCCTCTCAC (SEQ ID NO:138)
Li02	P=SGDKLGDKFAS (SEQ ID NO: 141)	P=QDRKRLS (SEQ ID NO: 143)	P=QAWDTNTVV (SEQ ID NO: 145)
	N=TCTGGAGATAAAT TGGGGGATAAATTGCT TCC (SEQ ID NO:140)	N=CAAGATAGGA AGCGTCTCTCA (SEQ ID NO:142)	N=CAGGCGTGGGACA CCAACACTGTGGTC (SEQ ID NO:144)
Li13	P=RASQSVSSYLA (SEQ ID NO: 386)	P=DASNRAT (SEQ ID NO: 387)	P=QQRSNWPMYT (SEQ ID NO: 388)
Li32	P=QASQDISYYLN (SEQ ID NO: 392)	P=DAFELEG (SEQ ID NO: 393)	P=QQSDQLPVT (SEQ ID NO: 394)
Li33	P=RASQSVSSYLA (SEQ ID NO: 398)	P=DASNRAT (SEQ ID NO: 399)	P=QQYDKWPLT (SEQ ID NO: 400)
Li34	P=HASQDISNYLS (SEQ ID NO: 404)	P=DAFNLET (SEQ ID NO: 405)	P=QHYDNLFPFT (SEQ ID NO: 406)
1A7	P=SASSSVSYM (SEQ ID NO: 146)	P=DTSKLAS (SEQ ID NO: 147)	P=QQWSSNPFT (SEQ ID NO: 148)
2F3	P=RASGNIYNYLA (SEQ ID NO: 149)	P=NAKTLPD (SEQ ID NO: 150)	P=QHFWAIPYT (SEQ ID NO: 151)
3P1D10.2 0	P=KSSQSLNLSGNQKNYLT (SEQ ID NO: 152)	P=WASTRES (SEQ ID NO: 153)	P=QNDISYPLFT (SEQ ID NO: 154)
3P1E11.3 E	P=KSSQSLNLSGNQKSYLT (SEQ ID NO: 155)	P=WASTRES (SEQ ID NO: 156)	P=QNDISYPLFT (SEQ ID NO: 157)
L1a.01	P=SGDSLPSKVFH (SEQ ID NO: 234)	P=RDNNRPS (SEQ ID NO: 235)	P=SSYDALTD (SEQ ID NO: 236)
L1a.02	P=RASQSITNSYLG (SEQ ID NO: 237)	P=DASSRAT (SEQ ID NO: 238)	P=QQASDAPE (SEQ ID NO: 239)
L1a.03	P=RASQGINFWLN (SEQ ID NO: 240)	P=AGSNLQS (SEQ ID NO: 241)	P=MQDSDFPF (SEQ ID NO: 242)
L1a.04	P=TGSSSNIGAGYDVS (SEQ ID NO: 243)	P=RNNNRPS (SEQ ID NO: 244)	P=QTYDNSTD (SEQ ID NO: 245)
L1a.05	P=SGDNIRSYYVH (SEQ ID NO: 246)	P=EDSNRPS (SEQ ID NO: 247)	P=QSYDSAILLH (SEQ ID NO: 248)
L1a.06	P=RSSQSLVLRGTGYTYLN (SEQ ID NO: 249)	P=LVSNRAS (SEQ ID NO: 250)	P=QQYYGMPL (SEQ ID NO: 251)
L1a.07	P=RASQSVSYQYLA (SEQ ID NO: 252)	P=GASSRAT (SEQ ID NO: 253)	P=QQYGSVPR (SEQ ID NO: 254)
L1a.08	P=SGDSLGSYYVH (SEQ ID NO: 255)	P=DDNDRPS (SEQ ID NO: 256)	P=SAYDISART (SEQ ID NO: 257)
L1a.09	P=SGDNLGSKYVS (SEQ ID NO: 258)	P=DDDDRPS (SEQ ID NO: 259)	P=SSYDFLNIGL (SEQ ID NO: 260)
L1a.10	P=SGDSLGGKKS VH (SEQ ID NO: 261)	P=EDSERPS (SEQ ID NO: 262)	P=SSYTNSVD (SEQ ID NO: 263)

	261)	262)	
L1a.11	P=SGDNLGKKYVG (SEQ ID NO: 264)	P=DDNRP (SEQ ID NO: 265)	P=QSYDDTSI (SEQ ID NO: 266)
L1a.12	P=SGDSLGNKYVH (SEQ ID NO: 267)	P=DDSDRPS (SEQ ID NO: 268)	P=QTWDYVGY (SEQ ID NO: 269)
L1a.13	P=TTGSSDVGGYNYVS (SEQ ID NO: 270)	P=DVSNRPS (SEQ ID NO: 271)	P=QSYDRYRLKN (SEQ ID NO: 272)
3B5.2	P=SASSRVSYVH (SEQ ID NO: 413)	P=DTSNLAS (SEQ ID NO: 414)	P=QQWSTNPPT (SEQ ID NO: 415)
	N=AGTGCCAGCTCAC GTGTAAGTTACGTG CAC (SEQ ID NO:427)	N=GACACATCCAAC CTGGCTTCT (SEQ ID NO:428)	N=CAGCAGTGGAGTA CTAACCCACCCACG (SEQ ID NO:429)
	P= RASQSVSSYLA (SEQ ID NO: 442)	P= DASNRAT (SEQ ID NO: 443)	P= QQRSNWPMYT (SEQ ID NO: 444)
Li81	N=AGGGCCAGTCAGA GTGTTAGCAGCTACT TAGCC (SEQ ID NO:445)	N=GATGCATCCAACAGGG CACT (SEQ ID NO:446)	N=CAGCAGCGTAGCAACTGG CGATGTACACT (SEQ ID NO:447)
*Determinado por el sistema de Kabat (ver más arriba). N = secuencia de nucleótidos, P = secuencia polipeptídica.			

En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende la VL codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35.

- 5 En un caso adicional de la descripción, la presente descripción proporciona un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (VL) en el que las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 son codificadas por secuencias de nucleótidos con al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad con las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de VL del polipéptido de cadena ligera de inmunoglobulina producido por el hibridoma 2.P3B5.2 (Designación de Depósito ATCC PTA-8106) o las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de VL del polipéptido de cadena ligera de inmunoglobulina producido por el hibridoma 7.P1D5.1.G9 (Designación de Depósito ATCC PTA-8107).

- 15 En otro caso, la presente descripción proporciona un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (VL) en el que las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 tienen secuencias de polipéptidos que son idénticas a los grupos CDR1, CDR2 y CDR3 mostrados en la tabla 5. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende la VL codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35.

- 20 En un caso adicional, la presente descripción proporciona un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (VL) en el que las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 son codificadas por secuencias de nucleótidos que son idénticas a las secuencias de nucleótidos que codifican los grupos CDR1, CDR2 y CDR3 mostrados en la tabla 5. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende la VL codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35.

- 25 En un caso adicional de la descripción, la presente descripción proporciona un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (VL) en el que las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 son codificadas por secuencias de nucleótidos con al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad con el polinucleótido que codifica las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de la cadena ligera de inmunoglobulina producida por el hibridoma 2.P3B5.2 (Designación de Depósito ATCC PTA-8106) o el polinucleótido que codifica las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de la cadena ligera de inmunoglobulina producida por el hibridoma 7.P1D5.1.G9 (Designación de Depósito ATCC PTA-8107).

- 35 En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende, consiste

- esencialmente en, o consiste en una VL codificada por uno o más de los polinucleótidos descritos anteriormente se une de forma específica o preferente al mismo epítipo que un anticuerpo monoclonal seleccionado de entre el grupo que consiste en 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10) 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495(L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 y Li81, o inhibirá competitivamente dicho anticuerpo monoclonal de la unión a Sp35.
- 10 En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una VL codificada por uno o más de los polinucleótidos descritos anteriormente se une de forma específica o preferente a un polipéptido Sp35 o un fragmento del mismo, o una variante de polipéptido Sp35, con una afinidad caracterizada por una constante de disociación (K_D) no mayor que 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M o 10^{-15} M.

En un caso adicional, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una VH con al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con una secuencia VH de polipéptidos de referencia seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 158 a 172, 372, 376, 380, 384 y 416 mostradas en la tabla 6. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende la VH codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35.

25 En otro caso, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una VH que tiene una secuencia polipeptídica seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 158 a 172, 372, 376, 380, 384 y 416 mostradas en la tabla 6. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende la VH codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35.

30

TABLA 6 - Secuencias de polipéptidos VH

VH	Secuencia	SEQ ID NO:
Li02	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYEMIWVRQAPGKGLEWVVS GP SGGLTWYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYCVRIDDS GW AFDIWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAP	158
Li09	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSMYSMVWVRQAPGKGLEWV IS PSGGKTMVYADSVKGRFTISRDNKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSP RY YDFWSGYHNYYYYYMDVWGKTTVTVSSASTKGPSVFPLAP	159
Li06	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYPMDWVRQAPGKGLEWVVS Y SSGGSTVYADSIKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGDS AF DIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAP	160

Li05	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYAMGWVRQAPGKGLEWV IV SSGGYTDYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGE NA FDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAP	161
Li04	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMGWVRQAPGKGLEWV IY PSGGGTHYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASSIAI AF DIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAP	162
Li08	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYEMVWVRQAPGKGLEWV RS SGGATKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKESPD YF DYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAP	163
Li11	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWV ST SSGGYTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDTSE DY YYMDVWGKGTMTVSSASTKGPSVFPLAP	164
Li10	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYPMVWVRQAPGKGLEWV IG PSGGVTAYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARPYS W WDFDLWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAP	165
Li01	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSKYQMTWVRQAPGKGLEWV Y PSGGNTVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASGTT V FDYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAP	166
Li07	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSMYFMGWVRQAPGKGLEWV IS PSGGFTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRH D IWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAP	167

Li03	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYPMEWVVRQAPGKGLEWVSY Y PSGGSTVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAGCL L GDFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP	168
Li12	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYNMFVVRQAPGKGLEWVSS SS SGGMTMYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREALY Y CSGGSCYSYYYYGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAP	169
1A7	QVQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWW W INTDTGEPTYTEDFQGRFAFSLETSASTVYLQFN NLKNEDTATYFCAREGTF F DYWGQGT TVTVSS	170
2F3	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFSDAWLDWVRQSPEKGLEWVIR IR SKANNHATNYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTGIYFCTPSFW W GQGT TVTVSS	171
3P1 D10.2C3 y 3P1 E11.3B7	QVQLQQSGAELARPGASVKLSCRASGYTFTSSWTQWVKQRPQGGLIEWIK IK PGDGDTRYTQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLASEDSAVYYCARHNSG G MDYWGQGT SVTVSS	172
Li1 3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYEMYWVRQAPGKGLEWVSRIVSSGGFTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CATEGDNDAFDIWGQGT TVTVSS	372
Li3 2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSA YMMQWVRQAPGKGLEWVSSISPSGGNTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARGDYGYWFDPWGQGLTVTVSS	376
Li3 3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYPMFWVRQAPGKGLEWVSWIGPSGGITKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCAR REGHNDWYFDLWGRGTLTVTVSS	380

Li3 4	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYEMYWVRQAPGKGLEW VSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARAAILDWYFDLWGRGTLTVSS	384
3B 5.2	QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCRASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLE WIGVIDPSDSYTNYNQKFRGKATLTVDTSSSTAAYMQLSSLTSEDSAVYY CARPYYGSHWFFDVWGTGTTTVSS	416
P1 A7 var. 2	QVQLVQSGHEVKQPGASVKVSKASGYTFTNYGMNWVvKQAPGQGLk WMGWINTDTGEPTYTEDFQGRFVFSIDTSASTvYLQISSLKAEDMAMY YCAREGVHFDYWGGQGLTVTVSS	432
Li8 1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYEMKWVRQAPGKGLEW VSVIGPSGGFTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ATEGDNDAFDIWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	433
Li8 1 (aglicosilado)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYEMKWVRQAPGKGLEW VSVIGPSGGFTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ATEGDNDAFDIWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNsAYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	435

En un caso adicional, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una VH con al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con una secuencia VH de polipéptidos de referencia seleccionada de entre el grupo que consiste en las 5 SEQ ID NO: 158-172, 372, 376, 380, 384 y 416. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende la VH codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35.

En otro caso, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una VH de la descripción, seleccionada de entre el 10 grupo que consiste en las SEQ ID NO: 158-172, 372, 376, 380, 384 y 416. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende la VH codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35.

En un caso adicional, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que comprende, consiste 15 esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una VH con al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o

100 % de identidad con una secuencia VH de polipéptidos de referencia seleccionada de entre el grupo que consiste en el polipéptido de cadena pesada de inmunoglobulina producido por el hibridoma 2.P3B5.2 (Designación de Depósito ATCC PTA-8106) y el polipéptido de cadena pesada de inmunoglobulina producido por el hibridoma 7.P1D5.1.G9 (Designación de Depósito ATCC PTA-8107).

5

En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una VH codificada por uno o más de los polinucleótidos descritos anteriormente se une de forma específica o preferente al mismo epítipo que un anticuerpo monoclonal seleccionado de entre el grupo que consiste en (201') 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7,

10

3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495(L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13, 7P1D5.1G9 y 3B5.2, o inhibirá competitivamente dicho anticuerpo monoclonal de la unión a Sp35.

15

En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una VH codificada por uno o más de los polinucleótidos descritos anteriormente se une de forma específica o preferente a un polipéptido Sp35 o un fragmento del mismo, o una variante de polipéptido Sp35, con una afinidad caracterizada por una constante de disociación (K_D) no mayor que 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3}

20

M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M o 10^{-15} M.

En casos adicionales, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que codifica una cadena pesada de inmunoglobulina, que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una cadena pesada con al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad con el polinucleótido de SEQ ID NO: 420 tal como se muestra más adelante. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende la cadena pesada codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35 y o al mismo epítipo que el anticuerpo monoclonal 3B5.2.

30

Secuencia de polinucleótidos de cadena pesada de inmunoglobulina para anticuerpo monoclonal quimérico humano murino 3B5.2:

ATGGGATGGAGCTGTGTAATGCTCTTGGTATCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCA
GGTCCAACACTGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTGGTGAGGCCTGGGACTTCAGTGAAG
TTGTCTGCAGGGCTTCTGGCTACACCTTACCAGCTACTGGATGCACTGGGTAAA
GCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATCGGAGTGATTGATCCTTCTGATAGTT
ATACTAACTACAATCAAAAGTTCAGGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACACATC
CTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCT
ATTACTGTGCAAGACCTTACTACGGTAGTCACTGGTCTTCGATGTCTGGGGCACA
GGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCT
GGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTC
AAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCA
GCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGC
AGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACG
TGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTG
TGACAAGACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCG
TCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCC
TGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTC
AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAG
GAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGC
CCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTG
TACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCT
GCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGG
GCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG
TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC
CTCTCCCTGTCTCCCGTTGA (SEQ ID NO:420).

5 En casos adicionales, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que codifica una región variable de cadena pesada (V_H), donde el polinucleótido comprende una secuencia de ácidos nucleicos V_H seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO 173 a 184, 370, 374, 378, 382 y 422, tal como se muestra en la tabla 7. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende la V_H codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35.

10

TABLA 7 - Secuencias de polinucleótidos V_H

V _H	Secuencia	SEQ ID NO:
----------------	-----------	------------

Li02	<p>GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTACTTACGAGA TGATTTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTCT ATCGTCCCTTCTGGTGGCCTTACTTGGTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACCGCCATGTATTACTGTGTACGGATTGAT GATAGTAGTGGTTGGGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCAC CGTCTCAAGCGCCTCCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC</p>	173
Li09	<p>GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTATGACTCTA TGGTTTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTAT ATCTCTCCTTCTGGTGGCAAGACTATGTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTTTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATTG AGACGCCGGTATTACGATTTTGGAGTGGTTATCACAATACTACTACTA CTACATGGACGTCTGGGGCAAAGGGACCACGGTCACCGTCTCAAGCGCCT CCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC</p>	174
Li06	<p>GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTGAGTACCCTA TGGATTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTCT ATCTATTCTTCTGGTGGCTCTACTGTTTATGCTGACTCCATTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCCAGAGAGGGT GACTCTGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC AAGCGCCTCCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC</p>	175
Li05	<p>GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTGCTTACGCTA TGGGTTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTCT ATCGTTTCTTCTGGTGGCTATACTGATTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCCAGAGAGGGT GACCATAATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC AAGCGCCTCCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC</p>	176
Li04	<p>GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTCGTTACAATA TGGGTTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTGTT ATCTATCCTTCTGGTGGCGGTACTCATTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCCAGATTCTATA GCAGATGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC AAGCGCCTCCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC</p>	177

Li08	<p>GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACCTTCTCTCATTACGAGA TGGTTTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTCT ATCCGTTCTTCTGGTGGCGCTACTAAGTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAAAGAGTCG CCAGACGACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTC AAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC</p>	178
Li11	<p>GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACCTTCTCTTCTTACGCTA TGTATTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTCT ATCTCTACTTCTGGTGGCTATACTGGTTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATACC AGCGATAATGACTACTACTACATGGACGTCTGGGGCAAAGGGACCACGGT CACCGTCTCAAGCGCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCAC CC</p>	179
Li10	<p>GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACCTTCTCTACTTACCCTA TGGTTTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTGG ATCGGTCTTCTGGTGGCGTACTGCTTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGACCCTAT AGCAGTGGCTGGTGGGACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCCTGGTCAC CGTCTCAAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC</p>	180
Li01	<p>GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACCTTCTCTAAGTACCAGA TGACTTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTCT ATCTATCCTTCTGGTGGCAATACTGTTTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGTGGGACT ACAGAGGCAGTCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTC AAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC</p>	181
Li07	<p>GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACCTTCTCTATGTACTTTA TGGGTTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTCT ATCTCTCCTTCTGGTGGCTTTACTTCTTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACTGCAGTCTACTATTGTGCGAGAGATCGG CATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCAAGCGC CTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC</p>	182

ES 2 673 153 T3

Li03	<p>GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTCAGTACCCTA TGGAGTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTGGT ATCTATCCTTCTGGTGGCTCTACTGTTTATGCTGACTCCGTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGCGGGG CAGTGGCTGGGGGACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGT CTCAAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC</p>	183
Li12	<p>GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTCAGTACAATA TGTTTTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTCGT ATCTCTTCTTCTGGTGGCATGACTATGTATGCTGACTCCGTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAAGCG TTACGGCCTTATTGTAGTGGTGGTAGCTGCTACTCCGACTACTACTACTA CGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCAAGCGCCT CCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC</p>	184
Li13	<p>GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTCATTACGAGA TGTATTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTCGT ATCGTTTCTTCTGGTGGCTTTACTAAGTATGCTGACTCCGTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCAACAGAGGGT GATAATGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC AAGC</p>	370
Li32	<p>GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTGCTTACATGA TGCAGTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTCT ATCTCTCCTTCTGGTGGCAATACTAAGTATGCTGACTCCGTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGAGAT TATGGATACTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTCTC AAGC</p>	374
Li33	<p>GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTATTTACCCTA TGTTTTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTGG ATCGGTCCCTTCTGGTGGCATTACTAAGTATGCTGACTCCGTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACAGCCACATATTACTGTGCGAGAGAGGGG CATAACGACTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACCGT CTCAAGC</p>	378

<p>Li34</p>	<p>GAAGTTC AATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTT CAGCCTGGTGGTTC TTTACGCTTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACCTTCTCTAATTACGAGA TGTATTGGGTTTCGCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTGGT ATCTATTCTTCTGGTGGCATTACTGTTTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTCCTACTATCTCTAGAGACA ACTCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCTAGGGCAGCC ATCCTCGACTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCCTGGTCACCGT CTCAAGC</p>	<p>382</p>
<p>3B5. 2</p>	<p>CAGGTCCA ACTGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTGGTGAGGCCTGGGACTTC AGTGAAGTTGCTCCTGCAGGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGA TGC ACTGGGTAAAGCAGAGGCCTGGACAAGCCCTGAGTGGATCGGAGTG ATTGATCCTTCTGATAGTTATACTAACTACAATCAAAGTT CAGGGGCAA GGCCACATTGACTGTAGACACATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCA GCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGACCTTAC TACGGTAGTCACTGGTCTTCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCA CGTCTCCTCA</p>	<p>422</p>
<p>Li81</p>	<p>GAAGTACAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTT CAGCCTGG TGGTCTTTACGICTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACCTTCTCT GCTTACGAGATGAAGTGGGTTTCGCAAGCTCCTGGTAAAGGTTT GGAGTGGGTTTCTGTTATCGGTCTTCTGGTGGCTTTACTTTTTA TGCTGACTCCGTTAAAGGTCGCTTCACTATCTCTAGAGACA ACT CTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGAACAGCTTAAGGGCTGAG GACACGGCCGTGTATTACTGTGCAACAGAGGGTGATAATGATG CTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCAAGC GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTC CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTC AAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCGTGGAACTCAG GCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTTACAG TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAAT CTTGTGACAAGACTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAA CTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAACCCAA GGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGG TGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTG GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCC TCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAA GTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA ACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGT CAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACA AGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTC TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGA ACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGT</p>	<p>448</p>

<p>Li81 aglicosilado</p>	<p>GAAGTACAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGG TGGTTCTTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACCTTTCTCT GCTTACGAGATGAAGTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTT GGAGTGGGTTTCTGTTATCGGTCTTCTGGTGGCTTTACTTTTTA TGCTGACTCCGTTAAAGGTCGCTTCACTATCTCTAGAGACAAC CTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGAACAGCTTAAGGGCTGAG GACACGGCCGTGTATTACTGTGCAACAGAGGGTGATAATGATG CTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCAAGC GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTC CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTC AAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAACCTCAG GCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAG TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAAT CTTGAGACAAGACTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAA CTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAA GGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGG TGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTG GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCGCGTACCGTGTGGTTCAGCGTCC TCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAA GTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA ACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGT CAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACA AGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTC TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGA ACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGT</p>	<p>450</p>
------------------------------	---	------------

En un caso adicional, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica VH con al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con una secuencia de ácidos nucleicos de referencia seleccionada de entre el grupo que consiste en las 5 SEQ ID NO: 173-184, 370, 374, 378, 382 y 422 de la tabla 7. En algunos casos, el polinucleótido codifica un polipéptido VH que se une de forma específica o preferente a Sp35.

En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una VH codificada por uno o más de los polinucleótidos descritos anteriormente se 10 une de forma específica o preferente al mismo epítipo que un anticuerpo monoclonal seleccionado de entre el grupo que consiste en (201') 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495(L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 15 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 3B5.2 y Li81 o inhibirá competitivamente dicho anticuerpo monoclonal de la unión a Sp35.

En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una VH codificada por uno o más de los polinucleótidos descritos anteriormente se 20 une de forma específica o preferente a un polipéptido Sp35 o un fragmento del mismo, o una variante de polipéptido

Sp35, con una afinidad caracterizada por una constante de disociación (K_D) no mayor que 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M o 10^{-15} M.

5

En un caso adicional, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una VH con al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad con una secuencia de polinucleótidos VH de referencia seleccionada de entre el grupo que consiste en el polinucleótido que codifica la cadena pesada de inmunoglobulina producidas por el hibridoma 2.P3B5.2 (Designación de Depósito ATCC PTA-8106) y el polinucleótido que codifica la cadena pesada de inmunoglobulina producidas por el hibridoma 7.P1D5.1.G9 (Designación de Depósito ATCC PTA-8107).

10

En un caso adicional, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una VL con al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con una secuencia polipeptídica VL de referencia seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 273 a 286, 373, 377, 381, 385 y 417 mostradas en la tabla 8. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende la VL codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35.

15

20 En otro caso, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una VL que tiene una secuencia polipeptídica seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 273 a 286, 373, 377, 381 385 y 417, mostradas en la tabla 8. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende la VL codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35.

25

TABLA 8 - Secuencias de polipéptidos VL

VL	Secuencia	SEQ ID NO:
Li02	FYSHSAQYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKFASWYQQKAGQS PVLV IFQDRKRLSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDTNT VVFGGGKLTVLGQPKAAP	273
Li09	FYSHSAQDIQMTQSPSSLSAFVGDRAITCRASQSIDTYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASKLEDGVPSRFRSGSGTGDFTLTIRSLQPEDFGTYCQQ SYSPLTFGGGKVEIKRTVAAP	274
Li06	FYSHSAQDIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQQKPG KAPNLLIYAASSLRTGVPSRFRSGSGTGDFTLTISSLQPEDFATYYCLQ DYSYPLTFGQGTKLEIKRTVAAP	275
Li05	FYSHSAQSVLTQPPSVSVAPGQTARISCGGDNIGSKSVHWYQQRPGQA PVLVYDDYDRPSGIPERFSGSNSGDTAILTITRVEVGDEADFYCQVR DSRTEERVFGGKVTVLGQPKAAP	276
Li08	FYSHSAQDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISYYLNWYQQKPG KAPKVLIDVSNLQTVPSRFRSGSASATDFTLTISSLQPEDIATYYCQQ SDNLPLTFGGGKVEIKRTVAAP	277

Li11	FYSHSAQDIQMTQSPSSVSAPIGDRVTITCRASQEIANYLAWYQQKPG KAPK LLIYDITYTLQTDVPPRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDTATYFCQQADIFF LSFG GGTKVEIKRTVAAP	278
Li10	FYSHSAQDIQMTQSPSSMSASVGDTVTITCRASQGIGNWLAWYQQKP GKAP LLIYAASSLESGVPSRFTGSGSSSGIDFTLTISDLHPEDLATYYCQQAQ TFPLTFGGGTRVDLKRTVAAP	279
Li01	FYSHSAQDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPG KAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ ADRFPAVTFGGGKVEIKRTVAAP	280
Li07	FYSHSAQSELTQPPSVSVSPGQTAITCSGDQLGDKHVAWYQQKPGQS PVLVIYLDIKRPAGISERFSGSNSGNTATLTIRGTQAMDEADYYCQAW DIKTVFGGGKLTVLSQPKAAP	281
Li03	FYSHSAQDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQS YSTPWTFGQGTKVEIKRTVAAP	282
1A7	QVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKRWY DTSKLAGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNPFT FGSGTKLEIK	283
2F3	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIYNYLAWFQQKQGKSPQLLV YNAKTLPDGVPSRFSGSGSGTQYFLKINSLQPEDFGSYCQHFWAIPY TFGGGKLE IKR	284
3P1D 10.2C 3	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPG QPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTINSVQAEDLAVYYCQ NDYSYPLFTFGSGTKLEIR	285
3P1E 11.3B 7	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNLSGNQKSYLTWYQQKPG QPPK LLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTINSVQAEDLAVYYCQNDYS YPLF TFGSGTKLEIR	286

Li13	DIQMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLI YDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLSEPEDFAVYYCQQRSNWPM YTFGGGTKLEIK	373
Li32	DIQMTQSPDLSASVGDRTITCQASQDISYYLNWYQQKPGMAPKLLI YDAFILEGGAPSRFSGSGSGTDFSTISNLQPEDATYFCQQSDQLPVT FGQGTKVEIR	377
Li33	DIQMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLI YDASNRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQYDKWPL TFGGGTKVEIK	381
Li34	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCHASQDISNYLSWYQQKPGKAPKLLI YDAFNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISLQPEDFATYYCQHYDNLFP TFGPGTRVAIR	385
3B5. 2	QIVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCSASSRVSYVHWYQQKSGTSPKRWL YDTSNLAGVPPARFGGNGSGTSYSLTISMEAEADAATYYCQQWSTNP PTFGGGTKLEIK	417
P1A 7 var. 1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRrLIY DTSKLAGIPARFSGSGSGTDyTLTISLSEPEDFAVYYCQQWSSNPFTF GQGTKVEIK	430
P1A 7 var. 2	qIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRrLIYD TSKLAGIPARFSGSGSGTDyTLTISLSEPEDFAVYYCQQWSSNPFTFG QGGTKVEIK	431
Li81	DIQMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLI YDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLSEPEDFAVYYCQQRSNWPM YTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHK KYYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC	434

En un caso adicional, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una VL con al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con una secuencia polipeptídica VL de referencia seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 273 a 286, 373, 377, 381 385 y 417, tal como se muestra en la tabla 8. En algunos casos un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende la VL codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35.

En otro caso, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una VL de la descripción, seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 273 a 286, 373, 377, 381, 385 y 417. En algunos casos, un anticuerpo o un

fragmento de unión a antígeno que comprende la VL codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35.

5 En un caso adicional, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una VL con al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad con una secuencia polipeptídica VL de referencia seleccionada de entre el grupo que consiste en el polipéptido de cadena ligera de inmunoglobulina producido por el hibridoma 2.P3B5.2 (Designación de Depósito ATCC PTA-8106) y el polipéptido de cadena ligera de inmunoglobulina producido por el hibridoma 7.P1D5.1.G9 (Designación de Depósito ATCC PTA-8107).

10 En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una VL codificada por uno o más de los polinucleótidos descritos anteriormente se une de forma específica o preferente al mismo epítipo que un anticuerpo monoclonal seleccionado de entre el grupo que consiste en 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7,
15 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495(L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 y Li81, o inhibirá competitivamente dicho anticuerpo monoclonal de la unión a Sp35.

20 En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una VL codificada por uno o más de los polinucleótidos descritos anteriormente se une de forma específica o preferente a un polipéptido Sp35 o un fragmento del mismo, o una variante de polipéptido Sp35, con una afinidad caracterizada por una constante de disociación (K_D) no mayor que 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3}
25 M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M o 10^{-15} M.

30 En casos adicionales, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que codifica una cadena ligera de inmunoglobulina, donde el polinucleótido es un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una cadena ligera con al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad con el polinucleótido de SEQ ID NO: 421 tal como se muestra más adelante. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende la cadena ligera codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35 y o el mismo epítipo que el anticuerpo monoclonal 3B5.2.

35 Secuencia de polinucleótidos de cadena ligera de inmunoglobulina para el anticuerpo quimérico murino y humano 3B5.2:

ATGGATTTTCAGGTGCAGATTTTCAGCTTCCTGCTAATCAGTGCCTCAGTCATAAT
ATCCAGAGGACAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAG
GGGAGAAGGTCACCATGACCTGCAGTGCCAGCTCACGTGTAAGTTACGTGCACTG
GTACCAGCAGAAGTCAGGCACCTCCCCAAAAGATGGCTTTATGACACATCCAAC
CTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCGCTTCGGTGGCAATGGGTCTGGGACCTCTTACTC
TCTCACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAGT
GGAGTACTAACCCACCCACGTTCCGGAGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAACGTAC
GGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTG
GAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA
CAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAG
AGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCA
AAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCT
GAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:421).

En casos adicionales, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que codifica una región variable de cadena ligera (VL), donde el polinucleótido comprende una secuencia de ácidos nucleicos VL seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO 185 a 194, 371, 375, 379, 383 y 423 tal como se muestra en la tabla 9. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende la VL codificada por el polinucleótido se une de forma específica o preferente a Sp35.

TABLA 9 - Secuencias de polinucleótidos VL

VL	Secuencia	SEQ ID NO:
Li02	TTCTATTCTCACAGTGCACAGTACGAATTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCCG TGTCCCCAGGACAGACAGCCAGCATCACCTGCTCTGGAGATAAATTGGGGGA TAAATTTGCTTCTTGGTATCAGCAGAAGGCAGGCCAGTCCCCTGTGCTGGTC ATCTTTCAAGATAGGAAGCGTCTCTCAGGGATCCCCTGAGCGATTCTCTGGCT CCAACTCTGGGAACACAGCCACTCTGACCATCAGCGGGACCCAGGCTATGGA TGAGGCTGACTATTACTGTGAGGCGTGGGACACCAACTGTGGTCTTCGGC GGAGGGACCAAGCTGACCGTCTTAGGTCAGCCCAAGGCTGCCCC	185
Li09	TTCTATTCTCACAGTGCACAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGTCTGCATTTGTGGGAGACAGAGTCGCCATCACTTGCCGCGCAAGTCAGAG CATCGACACCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCATAA CTCCTGATCTATGCTGCATCCAAGTTGGAAGACGGGGTCCCATCAAGATTCA GTGGCAGTGGAAGTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGAAGTCTGCAACC TGAAGATTTTGGAAGTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTCCCCCTCTCACT TTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCA	186
Li06	TTCTATTCTCACAGTGCACAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCC TGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAG TATTAGTAGCTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCAATC CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTACGAACTGGGGTCCCATCAAGATTCA GGGGCAGTGGATCTGGCACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCC TGAAGATTTTGCAACGTATTACTGTCTACAAGATTACAGTTACCCTCTCACT TTTGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCA	187
Li05	TTCTATTCTCACAGTGCACAGAGCGTCTTACTCAGCCACCCTCGGTGTCAG TGGCCCCAGGCCAGACGGCCAGGATTTCTGTGGGGGAGACAACATTTGGAAG TAAGAGTGTCCACTGGTACCAGCAGAGGCCAGGCCAGGCCCTGTCTGGTC GTGTATGATGATTATGACCGGCCCTCAGGGATCCCCTGAGCGATTCTCTGGCT CCAACTCTGGGGACACGGCCATCCTGACCATCACCAGGGTCAAGTCGGGGGA TGAGGCCGACTTTTATTGTGAGGTGAGGGACAGCCGTAAGGAAACGGGTG TTCGGCGGAGGGACCAAGGTGACCGTCTTAGGTCAGCCCAAGGCTGCCCC	188
Li08	TTCTATTCTCACAGTGCACAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCC TGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGA CATTAGTTACTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGAAAGCCCCAAG GTCCTGATCTACGATGTATCCAATTTGCAAAACAGGGTCCCATCAAGGTTCA GTGGAAGTGCCTGCTGCGACAGATTTTACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCC TGAAGATATTGCGACATATTACTGTCAACAGTCTGATAATCTCCCTCTCACT TTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATTAACGAACTGTGGCTGCACCA	189

Li11	<p>TTCTATTCTCACAGTGCACAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCTG TGTCTGCACCTATAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGA GATTGCCAACTACTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATGATACATACTTTGCAGACTGACGTCCCACCGAGGTTCA GCGGCAGTGGTTCCGGGACAGATTTCACTCTCACTATCAGCAGCCTGCAGCC TGAAGATACTGCAACTTACTTTTGTCAACAGGCTGACATTTTCCCGCTCTCT TTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCA</p>	190
Li10	<p>TTCTATTCTCACAGTGCACAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCA TGTCTGCTTCTGTAGGGACACAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGG TATTGGCAACTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCA CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCA CCGGCAGCGGCAGTTCCTCTGGGATAGATTTCACTCTCACCATCAGCGACCT GCACCCTGAAGATTTGGCAACTTACTATTGTCAACAGGCTCAGACTTTCCCG CTCACCTTCGGCGGAGGGACCAGGGTGGACCTCAAGCGAACTGTGGCTGCAC CA</p>	191
Li01	<p>TTCTATTCTCACAGTGCACAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGA CATTAGCAACTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTACGATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCAAGGTTCA GCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCC TGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGCTGACAGGTTCCCTGCGGTC ACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCA</p>	192
Li07	<p>TTCTATTCTCACAGTGCACAGAGCGAATTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCCG TGTCACCAGGACAGACAGCCATCATCACCTGCTCTGGAGATCAGTTGGGTGA CAAACATGTGGCTTGGTATCAACAGAAGCCAGGCCAGTCCCCTGTGCTGGTC ATCTATCTAGACATTAAGAGGCCCGCAGGGATTTCTGAGCGATTCTCTGGCT CCAACTCTGGAAATACAGCCACTCTGACCATCAGAGGGACCCAGGCTATGGA TGAAGCTGACTATTACTGTGAGCGTGGGACATCAAGACGGTCTTCGGCGGG GGGACCAAGCTGACCGTCTGAGTCAGCCCAAGGCTGCCCC</p>	193
Li03	<p>TTCTATTCTCACAGTGCACAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAG CATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCA GTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACC TGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCGTGGACG TTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGCACCA</p>	194

Li1 3	<p>GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAA AGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCC TGGTACCAACAGAAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCA TCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTT TATTACTGTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCGATGTACACTTTTGGCCAGGG ACCAAGCTGGAGATCAAA</p>	371
Li3 2	<p>GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGTCTGCATCTGTTGGAGAC AGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAAGACATTAGCTACTATTTAAAT TGGTATCAGCAGAAAACCAGGGATGGCCCCCTAAACTCCTCATCTACGATGCC TTCATTTTGGGAAGGAGGGGCCCATCACGGTTCAGTGGGAGCGGCTCTGGG ACAGATTTTCTTTTACCATCAGCAATCTACAGCCTGAGGATATTGCAACT TATTTCTGTCAACAGTCTGATCAACTGCCCCTGACCTTCGGCCAAGGGACC AAGGTGGAAATCAGA</p>	375
Li3 3	<p>GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAA AGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCC TGGTACCAACAGAAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCA TCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAGGATTTTGCAGTT TATTACTGTGTCAGCAGTATGATAAGTGGCCGCTCACTTTTCGGCGGAGGGACC AAGGTGGAGATCAAA</p>	379
Li3 4	<p>GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC AGAGTCACCATCACTTGCCATGCGAGTCAGGACATTAGCAACTATTTAAGT TGGTATCAGCAGAAAACCAGGTAAAGCCCCTAAACTCCTGATCTACGATGCT TTCAATTTGGAGACAGGAGTCCCATCGAGGTTTCAGTGGAAAGTGGATCTGGC ACAGATTTTACATTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCACA TATTACTGTGTCAGCACTATGATAATCTCCCATTCATTTTCGGCCCTGGGACC AGAGTGGCGATCAGA</p>	383
3B 5.2	<p>CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAGGGGAG AAGGTCACCATGACCTGCAGTGCCAGCTCACGTGTAAGTTACGTGCACTGG TACCAGCAGAAGTCAGGCACCTCCCCAAAAGATGGCTTTATGACACATCC AACCTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCGCTTCGGTGGCAATGGGTCTGGGACC TCTTACTCTCTACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTAT TACTGCCAGCAGTGGAGTACTAACCACCCACGTTTCGGAGGGGGGACCAAG CTGGAAATAAAA</p>	423

Li8 1	<p>GATATCCAGATGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAA AGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCC TGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCA TCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTT TATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCGATGTACACTTTTGGCCAGGGG ACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTG CTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGATAAC GCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTAC GAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTACCCATCAGGGCCTGAGCTCG CCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG</p>	449
-------	---	-----

En un caso adicional, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una VL con al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con un polinucleótido VL seleccionado de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 185-194, 371, 375, 379, 383 y 423 de la tabla 9. En algunos casos, el polinucleótido codifica un polipéptido VL que se une de forma específica o preferente a Sp35.

En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una VL codificada por uno o más de los polinucleótidos descritos anteriormente se une de forma específica o preferente al mismo epítipo que un anticuerpo monoclonal seleccionado de entre el grupo que consiste en 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495(L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 3B5.2 y Li81, o inhibirá competitivamente dicho anticuerpo monoclonal de la unión a Sp35.

En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una VL codificada por uno o más de los polinucleótidos descritos anteriormente se une de forma específica o preferente a un polipéptido Sp35 o un fragmento del mismo, o una variante de polipéptido Sp35, con una afinidad caracterizada por una constante de disociación (K_D) no mayor que 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M o 10^{-15} M.

En un caso adicional, la presente descripción incluye un polinucleótido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido nucleico que codifica una VL con al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad con una secuencia de polinucleótidos VL de referencia seleccionada de entre el grupo que consiste en el polinucleótido que codifica la cadena ligera de inmunoglobulina producida por el hibridoma 2.P3B5.2 (Designación de Depósito ATCC PTA-8106) y el polinucleótido que codifica la cadena ligera de inmunoglobulina producida por el hibridoma 7.P1D5.1.G9 (Designación de Depósito ATCC PTA-8107).

Cualquiera de los polinucleótidos descritos anteriormente puede incluir además ácidos nucleicos adicionales, que codifican, por ejemplo, un péptido señal para dirigir la secreción del polipéptido codificado, regiones constantes de anticuerpos tal como se describe en el presente documento u otros polipéptidos heterólogos tal como se describe en el presente documento.

También, tal como se describe en mayor detalle en otra parte en el presente documento, la presente descripción incluye composiciones que comprenden los polinucleótidos que comprenden uno o más de los polinucleótidos descritos anteriormente. En un caso, la descripción incluye composiciones que comprenden un primer polinucleótido y un segundo polinucleótido donde dicho primer polinucleótido codifica un polipéptido VH tal como se describe en el presente documento y donde dicho segundo polinucleótido codifica un polipéptido VL tal como se describe en el presente documento. Específicamente una composición que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en

un polinucleótido VH, tal como se muestra en la tabla 7, y un polinucleótido VL, tal como se muestra en la tabla 9, donde dicho polinucleótido VH y dicho polinucleótido VL se seleccionan de entre el grupo que consiste en:

- i) SEQ ID NO: 173 y SEQ ID NO: 185;
- 5 ii) SEQ ID NO: 174 y SEQ ID NO: 186;
- iii) SEQ ID NO: 175 y SEQ ID NO: 187;
- iv) SEQ ID NO: 176 y SEQ ID NO: 188;
- v) SEQ ID NO: 178 y SEQ ID NO: 189;
- vi) SEQ ID NO: 179 y SEQ ID NO: 190;
- 10 vii) SEQ ID NO: 180 y SEQ ID NO: 191;
- viii) SEQ ID NO: 181 y SEQ ID NO: 192;
- ix) SEQ ID NO: 182 y SEQ ID NO: 193;
- x) SEQ ID NO: 183 y SEQ ID NO: 194;
- xi) SEQ ID NO: 370 y SEQ ID NO: 371;
- 15 xii) SEQ ID NO: 374 y SEQ ID NO: 375;
- xiii) SEQ ID NO: 378 y SEQ ID NO: 379;
- xiv) SEQ ID NO: 382 y SEQ ID NO: 385;
- xv) SEQ ID NO: 422 y SEQ ID NO: 423;
- xvi) SEQ ID NO: 448 y SEQ ID NO: 449; y
- 20 xvii) SEQ ID NO: 450 y SEQ ID NO: 449.

La presente descripción también incluye fragmentos de los polinucleótidos de la descripción, tal como se describe en otra parte. Adicionalmente en la descripción también se contemplan polinucleótidos que codifican polinucleótidos de fusión, fragmentos Fab y otros derivados, tal como se describe en el presente documento.

- 25 Los polinucleótidos pueden ser producidos o fabricados por cualquier procedimiento conocido en la técnica. Por ejemplo, si la secuencia de nucleótidos del anticuerpo es conocida, un polinucleótido que codifica el anticuerpo puede ensamblarse a partir de oligonucleótidos sintetizados químicamente (por ejemplo, tal como se describe en Kutmeier *et al.*, *BioTechniques* 17:242 (1994)), lo que, sucintamente, implica la síntesis de oligonucleótidos superpuestos que contienen partes de la secuencia que codifica el anticuerpo, hibridación y ligamiento de dichos oligonucleótidos, y a continuación amplificación de los oligonucleótidos ligados por PCR.
- 30

- Alternativamente, un polinucleótido que codifica un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo puede generarse a partir de ácido nucleico de una fuente adecuada. Si no se dispone de un clon que contenga un ácido nucleico que codifica un anticuerpo determinado, pero la secuencia de la molécula del anticuerpo es conocida, puede sintetizarse químicamente un ácido nucleico que codifica el anticuerpo u obtenerse de una fuente adecuada (por ejemplo, una biblioteca de ADNc de anticuerpos o una biblioteca de ADNc generada a partir del ácido nucleico, preferentemente poli A+ARN, aislado de cualquier tejido o célula que expresa el anticuerpo u otro anticuerpo Sp35, tal como células de hibridoma seleccionadas para expresar un anticuerpo) por amplificación de PCR usando cebadores sintéticos hibridables en los extremos 3' y 5' de la secuencia o por clonación usando una sonda de oligonucleótido específica para la secuencia génica en particular para identificar, por ejemplo, un clon de ADNc de una biblioteca de ADNc que codifica el anticuerpo u otro anticuerpo Sp35. Los ácidos nucleicos amplificados generados por PCR pueden clonarse a continuación en vectores de clonación replicables usando cualquier procedimiento bien conocido en la técnica.
- 45

- Una vez que se determina la secuencia de nucleótidos y la secuencia de aminoácidos correspondiente del anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo, su secuencia de nucleótidos puede manipularse usando procedimientos bien conocidos en la técnica para la manipulación de secuencias de nucleótidos, por ejemplo, técnicas de ADN recombinante, mutagénesis dirigida al sitio, PCR, etc. (véanse, por ejemplo, las técnicas descritas en Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.S. (1990) y Ausubel *et al.*, eds., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY (1998), para generar anticuerpos que tienen una secuencia de aminoácidos diferente, por ejemplo para crear sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácidos.
- 50

- 55 Un polinucleótido que codifica un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo puede estar compuesto por cualquier polirribonucleótido o polidesoxirribonucleótido, que puede ser ARN o ADN no modificado o ARN o ADN modificado. Por ejemplo, un polinucleótido que codifica anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo puede estar compuesto por ADN monocatenario o bicatenario, ADN que es una mezcla de regiones monocatenarias y bicatenarias, ARN monocatenario y bicatenario y ARN que es una mezcla de regiones monocatenarias y bicatenarias, moléculas híbridas que comprenden ADN y ARN que pueden
- 60

- ser monocatenarios o, más normalmente, bicatenarios o una mezcla de regiones monocatenarias y bicatenarias. Además, un polinucleótido que codifica un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo puede estar compuesto por regiones tricatenarias que comprenden ARN o ADN o bien ARN y ADN. Un polinucleótido que codifica un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo puede contener también una o más bases modificadas o estructuras principales de ADN o ARN modificadas por estabilidad o por otros motivos. Las bases "modificadas" incluyen, por ejemplo, bases tritiladas y bases no habituales como inosina. Pueden realizarse diversas modificaciones en el ADN y el ARN; así, "polinucleótido" comprende formas modificadas químicamente, enzimáticamente o metabólicamente.
- 10 Puede crearse un polinucleótido aislado que codifica una variante no natural de un polipéptido derivado de una inmunoglobulina (por ejemplo, una porción de cadena pesada o una porción de cadena ligera de inmunoglobulina) introduciendo una o más sustituciones, adiciones o deleciones de nucleótidos en la secuencia de nucleótidos de la inmunoglobulina de manera que se introducen una o más sustituciones, adiciones o deleciones de aminoácidos en la proteína codificada. Las mutaciones pueden introducirse por técnicas estándar, tales como mutagénesis dirigida al sitio y mutagénesis mediada por PCR. Preferentemente, se realizan sustituciones de aminoácidos conservadoras en uno o más residuos de aminoácidos no esenciales.

V. POLIPÉPTIDOS DE ANTICUERPOS SP35

- 20 La presente descripción se dirige además a polipéptidos aislados que conforman anticuerpos Sp35, fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos. Los anticuerpos Sp35 de la presente descripción comprenden polipéptidos, por ejemplo, secuencias de aminoácidos que codifican regiones de unión a antígenos específicas de Sp35 derivadas de moléculas de inmunoglobulina. Una secuencia de polipéptidos o aminoácidos "derivado de" una proteína designada hace referencia al origen del polipéptido. En algunos casos, la secuencia de polipéptidos o aminoácidos que se deriva de una secuencia de polipéptidos o aminoácidos de inicio en particular tiene una secuencia de aminoácidos que es esencialmente idéntica a la de la secuencia de inicio, o una parte de la misma, donde la parte consiste en al menos 10-20 aminoácidos, al menos 20-30 aminoácidos, al menos 30-50 aminoácidos, o que es identificable por otros medios para un experto en la materia ya que tiene su origen en la secuencia de inicio.
- 30 En un caso, la presente descripción proporciona un polipéptido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (VH), donde al menos una de las CDR de la región variable de cadena pesada o al menos dos de las CDR de la región variable de cadena pesada tienen al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 o CDR3 de cadena pesada de referencia de los anticuerpos monoclonales Sp35 descritos en el presente documento. Alternativamente, las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de la VH tienen al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada de referencia de los anticuerpos monoclonales Sp35 descritos en el presente documento. Así, de acuerdo con este aspecto una región variable de cadena pesada de la descripción tiene secuencias de polipéptidos de CDR1, CDR2 y CDR3 relacionadas con los grupos mostrados en la tabla 4, más arriba. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende el polipéptido VH se une de forma específica o preferente a Sp35.

En otro caso la presente descripción proporciona un polipéptido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (VH) en la que las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 tienen secuencias de polipéptidos que son idénticas a los grupos CDR1, CDR2 y CDR3 mostrados en la tabla 4. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende el polipéptido VH se une de forma específica o preferente a Sp35.

En un caso, la presente descripción proporciona un polipéptido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (VH), donde al menos una de las CDR de la región variable de cadena pesada o al menos dos de las CDR de la región variable de cadena pesada tienen al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad con secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada de referencia seleccionadas de entre el grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 de la VH de la cadena pesada de inmunoglobulina producidas por el hibridoma 2.P3B5.2 (Designación de Depósito ATCC PTA-8106) y las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 de la VH de la cadena pesada de inmunoglobulina producidas por el hibridoma 7.P1D5.1.G9 (Designación de Depósito ATCC PTA-8107).

En un caso adicional, la presente descripción incluye un polipéptido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un polipéptido VH con al menos el 80 %, 85 %, 90 % 95 % o 100 % de identidad con una

secuencia VH de polipéptidos de referencia seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 158 a 172, 372, 376, 380, 384, 416 y 433, tal como se muestra en la tabla 6 y la SEQ ID NO: 435. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende el polipéptido VH se une de forma específica o preferente a Sp35.

5

En otro caso, la presente descripción incluye un polipéptido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un polipéptido VH seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 158 a 172, 372, 376, 380, 384, 416 y 433, tal como se muestra en la tabla 6 y SEQ ID NO: 435. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende el polipéptido VH se une de forma específica o preferente a Sp35.

10

En un caso adicional, la presente descripción incluye un polipéptido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un polipéptido VH con al menos el 80 %, 85 %, 90 % 95 % o 100 % de identidad con una secuencia VH de polipéptidos de referencia seleccionada de entre el grupo que consiste en la cadena pesada de inmunoglobulina producidas por el hibridoma 2.P3B5.2 (Designación de Depósito ATCC PTA-8106) y la cadena pesada de inmunoglobulina producidas por el hibridoma 7.P1D5.1.G9 (Designación de Depósito ATCC PTA-8107).

15

En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en uno o más de los polipéptidos VH descritos anteriormente se une de forma específica o preferente al mismo epítipo que un anticuerpo monoclonal seleccionado de entre el grupo que consiste en 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495(L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 y Li81, o inhibirá competitivamente dicho anticuerpo monoclonal de la unión a Sp35.

20

25

En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un VH encriptado por uno o más de los polipéptidos descritos anteriormente se une de forma específica o preferente a un polipéptido Sp35 o un fragmento del mismo, o una variante de polipéptido Sp35, con una afinidad caracterizada por una constante de disociación (K_D) no mayor que 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M o 10^{-15} M.

30

35

En otro caso, la presente descripción proporciona un polipéptido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (VL), donde al menos una de las CDR de la región variable de cadena ligera o al menos dos de las CDR de la región variable de cadena ligera tienen al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 o CDR3 de cadena pesada de referencia de los anticuerpos monoclonales Sp35 descritos en el presente documento. Alternativamente, las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de la VL tienen al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera de referencia de los anticuerpos monoclonales Sp35 descritos en el presente documento. Así, de acuerdo con este caso, una región variable de cadena ligera de la descripción tiene secuencias de polipéptidos de CDR1, CDR2 y CDR3 relacionadas con los polipéptidos mostrados en la tabla 5, más arriba. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende el polipéptido VL se une de forma específica o preferente a Sp35.

40

45

En otro caso, la presente descripción proporciona un polipéptido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (VL) en la que las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 tienen secuencias de polipéptidos que son idénticas a los grupos CDR1, CDR2 y CDR3 mostrados en la tabla 5. En algunos casos un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende el polipéptido VL se une de forma específica o preferente a Sp35.

50

En un caso, la presente descripción proporciona un polipéptido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (VL), donde al menos una de las CDR de la región variable de cadena ligera o al menos dos de las CDR de la región variable de cadena ligera tienen al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad con secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera de referencia seleccionadas de entre el grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de la cadena ligera de inmunoglobulina producida por el hibridoma 2.P3B5.2 (Designación de Depósito ATCC PTA-8106) y las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de la cadena ligera de inmunoglobulina producida por el hibridoma 7.P1D5.1.G9 (Designación de Depósito ATCC PTA-8107).

55

60

En un caso adicional, la presente descripción incluye un polipéptido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un polipéptido VL con al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con una secuencia polipeptídica VL de referencia seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 273 a 286, 373, 377, 381, 385, 417 y 434, mostradas en la tabla 8. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende el polipéptido VL se une de forma específica o preferente a Sp35.

En otro caso, la presente descripción incluye un polipéptido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un polipéptido VL seleccionado de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 273 a 286, 373, 377, 381, 385, 417 y 434, mostradas en la tabla 8. En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que comprende el polipéptido VL se une de forma específica o preferente a Sp35.

En un caso adicional, la presente descripción incluye un polipéptido aislado que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un polipéptido VL con al menos el 80 %, 85 %, 90 % 95 % o 100 % de identidad con una secuencia polipeptídica VL de referencia seleccionada de entre el grupo que consiste en la VL de la cadena ligera de inmunoglobulina producida por el hibridoma 2.P3B5.2 (Designación de Depósito ATCC PTA-8106) y la VL de la cadena ligera de inmunoglobulina producida por el hibridoma 7.P1D5.1.G9 (Designación de Depósito ATCC PTA-8107).

En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende, consiste esencialmente en, uno o más de los polipéptidos VL descritos anteriormente se une de forma específica o preferente al mismo epítipo que un anticuerpo monoclonal seleccionado de entre el grupo que consiste en 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495(L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 y Li81, o inhibirá competitivamente dicho anticuerpo monoclonal de la unión a Sp35.

En algunos casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en uno o más de los polipéptidos VL descritos anteriormente se une de forma específica o preferente a un polipéptido Sp35 o un fragmento del mismo, o una variante de polipéptido Sp35, con una afinidad caracterizada por una constante de disociación (K_D) no mayor que 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M o 10^{-15} M.

En otros casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un polipéptido VH, tal como se muestra en la tabla 6, y un polipéptido VL, tal como se muestra en la tabla 8, seleccionados de entre el grupo que consiste en:

- i) SEQ ID NO: 170 y SEQ ID NO: 283;
- ii) SEQ ID NO: 171 y SEQ ID NO: 284;
- iii) SEQ ID NO: 172 y SEQ ID NO: 285;
- 45 iv) SEQ ID NO: 172 y SEQ ID NO: 286;
- v) SEQ ID NO: 158 y SEQ ID NO: 273;
- vi) SEQ ID NO: 159 y SEQ ID NO: 274;
- vii) SEQ ID NO: 160 y SEQ ID NO: 275;
- viii) SEQ ID NO: 161 y SEQ ID NO: 276;
- 50 ix) SEQ ID NO: 163 y SEQ ID NO: 277;
- x) SEQ ID NO: 164 y SEQ ID NO: 278;
- xi) SEQ ID NO: 165 y SEQ ID NO: 279;
- xii) SEQ ID NO: 166 y SEQ ID NO: 280;
- xiii) SEQ ID NO: 167 y SEQ ID NO: 281;
- 55 xiv) SEQ ID NO: 168 y SEQ ID NO: 282;
- xv) SEQ ID NO: 372 y SEQ ID NO: 373;
- xvi) SEQ ID NO: 376 y SEQ ID NO: 377;
- xvii) SEQ ID NO: 380 y SEQ ID NO: 381;
- xviii) SEQ ID NO: 384 y SEQ ID NO: 385;
- 60 xix) SEQ ID NO: 416 y SEQ ID NO: 417;

xx) SEQ ID NO: 433 y SEQ ID NO: 434;
 xxi) SEQ ID NO: 435 y SEQ ID NO: 434.

- En otros casos, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un polipéptido VH y un polipéptido VL seleccionado de entre el grupo que consiste en el polipéptido VH y el polipéptido VL producido por el hibridoma 2.P3B5.2 (Designación de Depósito ATCC PTA-8106) y el polipéptido VH y el polipéptido VL producido por el hibridoma 7.P1D5.1.G9 (Designación de Depósito ATCC PTA-8107).
- 10 Cualquiera de los polipéptidos descritos anteriormente puede incluir además polipéptidos adicionales, por ejemplo, un péptido señal para dirigir la secreción del polipéptido codificado, regiones constantes de anticuerpos tal como se describe en el presente documento u otros polipéptidos heterólogos tal como se describe en el presente documento. Además, los polipéptidos de la descripción incluyen fragmentos de polipéptidos tal como se describe en otra parte. Adicionalmente los polipéptidos de la descripción incluyen polipéptido de fusión, fragmentos Fab y otros derivados, tal como se describe en el presente documento.

Además, tal como se describe en mayor detalle en otra parte en el presente documento, la presente descripción incluye composiciones que comprenden los polipéptidos descritos anteriormente.

- 20 Un experto en la materia comprenderá también que los polipéptidos de anticuerpos Sp35 tal como se describe en el presente documento pueden modificarse de manera que varían en la secuencia de aminoácidos con respecto al polipéptido de unión presente en la naturaleza del que se obtuvieron. Por ejemplo, una secuencia de polipéptidos o aminoácidos derivada de una proteína designada puede ser similar, por ejemplo, tener un cierto porcentaje de identidad con la secuencia de inicio, por ejemplo, puede tener el 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con la secuencia de inicio.

Además, pueden realizarse sustituciones, deleciones o inserciones de nucleótidos o aminoácidos que conducen a sustituciones o cambios conservadores en regiones de aminoácidos "no esenciales". Por ejemplo, una secuencia de polipéptidos o aminoácidos derivada de una proteína designada puede ser idéntica a la secuencia de inicio excepto por una o más sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácidos individuales, por ejemplo, una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, quince, veinte o más sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácidos individuales. En algunos casos, una secuencia de polipéptidos o aminoácidos derivada de una proteína designada tiene de una a cinco, de una a diez, de una a quince o de una a veinte sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácidos individuales con respecto a la secuencia de inicio.

Algunos polipéptidos de anticuerpos Sp35 de la presente descripción comprenden, consisten esencialmente en o consisten en una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de aminoácidos humana. Sin embargo, algunos polipéptidos de anticuerpos Sp35 comprenden uno o más aminoácidos contiguos derivados de otra especie de mamífero. Por ejemplo, un anticuerpo Sp35 de la presente descripción puede incluir una porción de cadena pesada de primate, una porción bisagra o una región de unión a antígeno. En otro ejemplo, uno o más aminoácidos derivados de ratón pueden estar presentes en un polipéptido de anticuerpos no murinos, por ejemplo, en un sitio de unión a antígeno de un anticuerpo Sp35. En algunas aplicaciones terapéuticas, se diseñan anticuerpos específicos de Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o análogos de los mismos de manera que no sean inmunógenos en el animal al que se administra el anticuerpo.

En algunos casos, un polipéptido de anticuerpo Sp35 comprende una secuencia de aminoácidos o una o más fracciones no asociadas normalmente con un anticuerpo. Más adelante se describen en mayor detalle modificaciones de ejemplo. Por ejemplo, un fragmento de anticuerpo fv monocatenario puede comprender una secuencia enlazadora flexible, o puede modificarse para añadir una fracción funcional (por ejemplo, PEG, un fármaco, una toxina o una etiqueta).

Un polipéptido de anticuerpo Sp35 puede comprender, consistir esencialmente en o consistir en una proteína de fusión. Las proteínas de fusión son moléculas quiméricas que comprenden, por ejemplo, un dominio de unión a antígeno de inmunoglobulina con al menos un sitio de unión diana, y al menos una porción heteróloga, es decir, una porción con la que no está unido naturalmente en la naturaleza. Las secuencias de aminoácidos pueden existir normalmente en proteínas separadas que se unen entre sí en el polipéptido de fusión o pueden existir normalmente en la misma proteína pero están colocadas en una nueva ordenación en el polipéptido de fusión. Las proteínas de fusión pueden crearse, por ejemplo, por síntesis química, o creando y traduciendo polinucleótido en el que las regiones peptídicas están codificadas en la relación deseada.

El término "heterólogo" según se aplica a un polinucleótido o un polipéptido significa que el polinucleótido o polipéptido se obtiene de una entidad distinta al resto de la entidad con la que se compara. Por ejemplo, tal como se usa en el presente documento, un "polipéptido heterólogo" que se fusionará con un anticuerpo Sp35, o un fragmento de unión a antígeno, variante o análogo del mismo se obtiene de un polipéptido no de inmunoglobulina de la misma especie, o un polipéptido de inmunoglobulina o no inmunoglobulinas de una especie diferente.

Una "sustitución de aminoácidos conservadora" es aquella en la que el residuo de aminoácido es sustituido por un residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral similar. Las familias de residuos de aminoácidos que tienen cadenas laterales similares se han definido en la técnica, incluyendo cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares no cargadas (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales beta-ramificadas (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina). Así, un residuo de aminoácido no esencial en un polipéptido de inmunoglobulina está sustituido preferentemente por otro residuo de aminoácido de la misma familia de cadena lateral. En otro caso, una cadena de aminoácidos puede estar sustituida por una cadena estructuralmente similar que difiere en el orden y/o la composición de los miembros de la familia de cadenas laterales.

Alternativamente, en otro caso, pueden introducirse mutaciones aleatoriamente a lo largo de parte o la totalidad de la secuencia codificante de inmunoglobulina, tal como por mutagénesis de saturación, y los mutantes resultantes pueden incorporarse en anticuerpos Sp35 para su uso en los procedimientos diagnósticos y terapéuticos descritos en el presente documento y someterse a cribado según su capacidad de unirse al antígeno deseado, por ejemplo, Sp35.

25 VI. PROTEÍNAS DE FUSIÓN Y CONJUGADOS DE ANTICUERPOS

Tal como se expone en mayor detalle en otra parte en el presente documento, los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden fusionarse adicionalmente de forma recombinante con un polipéptido heterólogo en el extremo N o C o conjugarse químicamente (incluyendo conjugaciones covalentes y no covalentes) con polipéptidos u otras composiciones. Por ejemplo, los anticuerpos Sp35 específicos de Sp35 pueden fusionarse de forma recombinante o conjugarse con moléculas útiles como etiquetas en ensayos de detección y moléculas efectoras tales como polipéptidos heterólogos, fármacos, radionúclidos o toxinas. Véanse, por ejemplo, publicaciones PCT WO-92/08495; WO-91/14438; WO-89/12624; patente de EE. UU. n° 5.314.995; y documento EP 396.387.

Los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción incluyen derivados que son modificados, es decir, por la unión covalente de cualquier tipo de molécula con el anticuerpo de manera que la unión covalente no impide que el anticuerpo se una a Sp35. Por ejemplo, pero no a modo de limitación, los derivados de anticuerpos incluyen anticuerpos que han sido modificados, por ejemplo, por glucosilación, acetilación, pegilación, fosfilación, fosforilación, amidación, derivatización por grupos de protección/bloqueo conocidos, escisión proteolítica, unión a un ligando celular u otra proteína, etc. Puede realizarse cualquiera de numerosas modificaciones químicas mediante técnicas conocidas, que incluyen, pero no se limitan a escisión química específica, acetilación, formilación, síntesis metabólica de tunicamicina, etc. Además, el derivado puede contener uno o más aminoácidos no clásicos.

Los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden estar compuestos por aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos o enlaces peptídicos modificados, es decir, isoésteres peptídicos, y pueden contener aminoácidos distintos de los 20 aminoácidos codificados por genes. Los anticuerpos específicos Sp35 pueden modificarse por procesos naturales, tales como procesamiento postraducciona, o por técnicas de modificación química que son bien conocidas en la técnica. Dichas modificaciones están bien descritas en los textos básicos y en monografías más detalladas, así como en una voluminosa bibliografía de investigación. Las modificaciones pueden producirse en cualquier lugar del anticuerpo específico Sp35, incluyendo la estructura principal peptídica, las cadenas laterales de aminoácidos y los extremos amino o carboxilo, o en fracciones tales como hidratos de carbono. Se observará que el mismo tipo de modificación puede estar presente en el mismo grado o en grados variables en varios lugares en un anticuerpo específico Sp35 dado. Además, un anticuerpo específico Sp35 dado puede contener muchos tipos de modificaciones. Los anticuerpos específicos Sp35 puede ser ramificados, por ejemplo, como resultado de ubicuitinación, y pueden ser cíclicos, con o sin ramificación. Los anticuerpos específicos Sp35 cíclicos, ramificados y cíclicos ramificados pueden obtenerse de procesos naturales de postraduccion o pueden prepararse por procedimientos sintéticos. Las modificaciones incluyen acetilación, acilación, ADP-ribosilación, amidación, unión covalente de flavina, unión

covalente de una fracción hemo, unión covalente de un nucleótido o derivado de nucleótido, unión covalente de un lípido o un derivado de lípido, unión covalente de fosfatidilinositol, reticulación, ciclación, formación de enlaces disulfuro, desmetilación, formación de reticulaciones covalentes, formación de cisteína, formación de piroglutamato, formilación, carboxilación gamma, glucosilación, formación de anclaje GPI, hidroxilación, yodación, metilación, miristilación, oxidación, pegilación, procesamiento proteolítico, fosforilación, prenilación, racemización, selenilación, sulfatación, adición de aminoácidos mediada por ARN de transferencia a proteínas como arginilación y ubiquitinación. (Véase, por ejemplo, *Proteins – Structure And Molecular Properties*, T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, Nueva York 2ª ed., (1993); *Posttranslational Covalent Modification of Proteins*, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, Nueva York, pág. 1-12 (1983); Seifter *et al.*, *Meth Enzymol* 182:626-646 (1990); Rattan *et al.*, *Ann NY Acad Sci* 663:48-62 (1992)).

La presente descripción también proporciona proteínas de fusión que comprenden un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo, y un polipéptido heterólogo. El polipéptido heterólogo con el que se fusiona el anticuerpo puede ser útil para función o es útil para dirigirse a células que expresan el polipéptido Sp35. En un caso, una proteína de fusión de la descripción comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos de una cualquiera o más de las regiones V_H de un anticuerpo de la descripción o la secuencia de aminoácidos de una cualquiera o más de las regiones V_L de un anticuerpo de la descripción o fragmentos o variantes del mismo, y una secuencia polipeptídica heteróloga. En otro caso, una proteína de fusión para el uso en los procedimientos diagnósticos y terapéuticos descritos en el presente documento comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos de una cualquiera, dos, tres de las CDR de V_H de un anticuerpo específico Sp35, o fragmentos, variantes o derivados del mismo, o la secuencia de aminoácidos de una cualquiera, dos, tres de las CDR de V_L de un anticuerpo específico Sp35, o fragmentos, variantes o derivados del mismo, y una secuencia polipeptídica heteróloga. En un caso, la proteína de fusión comprende un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos de una CDR3 de V_H de un anticuerpo específico Sp35 de la presente descripción, o fragmento, derivado o variante del mismo, y una secuencia polipeptídica heteróloga, donde esta proteína de fusión se une específicamente a al menos un epítipo de Sp35. En otro caso, una proteína de fusión comprende un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos de al menos una región V_H de un anticuerpo específico Sp35 de la descripción y la secuencia de aminoácidos de al menos una región V_L de un anticuerpo específico Sp35 de la descripción o fragmentos, derivados o variantes del mismo, y una secuencia polipeptídica heteróloga. Preferentemente, las regiones V_H y V_L de la proteína de fusión corresponden a un único anticuerpo fuente (o un fragmento scFv o Fab) que se une específicamente al menos a un epítipo de Sp35. En otro caso más, una proteína de fusión para el uso en los procedimientos diagnósticos y terapéuticos descritos en el presente documento comprende un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos de una cualquiera, dos, tres o más de las CDR de V_H de un anticuerpo específico Sp35 y la secuencia de aminoácidos de una cualquiera, dos, tres o más de las CDR de V_L de un anticuerpo específico Sp35, o fragmentos o variantes del mismo, y una secuencia polipeptídica heteróloga. Preferentemente, dos, tres, cuatro, cinco, seis, o más de la CDR o las CDR de V_H o la CDR o las CDR de V_L corresponden a un único anticuerpo fuente (o un fragmento scFv o Fab) de la descripción. Las moléculas de ácidos nucleicos que codifican estas proteínas de fusión están comprendidas también por la descripción.

Las proteínas de fusión de ejemplo a las que se hace referencia en la bibliografía incluyen fusiones del receptor de linfocitos T (Gascoigne *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:2936-2940 (1987)); CD4 (Capon *et al.*, *Nature* 337:525-531 (1989); Traunecker *et al.*, *Nature* 339:68-70 (1989); Zettmeissl *et al.*, *DNA Cell Biol. USA* 9:347-353 (1990); y Byrn *et al.*, *Nature* 344:667-670 (1990)); L-selectina (receptor de inicio) (Watson *et al.*, *J. Cell. Biol.* 110:2221-2229 (1990); y Watson *et al.*, *Nature* 349:164-167 (1991)); CD44 (Aruffo *et al.*, *Cell* 61:1303-1313 (1990)); CD28 y B7 (Linsley *et al.*, *J. Exp. Med.* 173:721-730 (1991)); CTLA-4 (Lisley *et al.*, *J. Exp. Med.* 174:561-569 (1991)); CD22 (Stamenkovic *et al.*, *Cell* 66:1133-1144 (1991)); receptor TNF (Ashkenazi *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:10535-10539 (1991); Lesslauer *et al.*, *Eur. J. Immunol.* 27:2883-2886 (1991); y Peppel *et al.*, *J. Exp. Med.* 174:1483-1489 (1991)); y receptor IgE a (Ridgway y Gorman, *J. Cell. Biol.* Vol. 115, Abstract No. 1448 (1991)).

En algunos casos, los anticuerpos Sp35, fragmentos de anticuerpos, derivados y variantes de los mismos comprenden además una fracción de direccionamiento. Las fracciones de direccionamiento incluyen una proteína o un péptido que dirige la localización a una cierta parte del cuerpo, por ejemplo, al encéfalo o a compartimentos del mismo. En algunos casos, los anticuerpos Sp35, fragmentos de anticuerpos, derivados y variantes de los mismos se unen o se fusionan con una fracción de direccionamiento encefálico. Las fracciones de direccionamiento encefálico están unidas de forma covalente (por ejemplo, directa, fusión traduccional o por enlace químico directamente o a través de una molécula separadora, que puede ser opcionalmente escindible) o unidas de forma no covalente (por ejemplo, a través de interacciones reversibles tales como avidina, biotina, proteína A, IgG, etc.). En otros casos, los anticuerpos Sp35, fragmentos de anticuerpos, derivados y variantes de los mismos están unidos a una o más fracciones de direccionamiento encefálico. En casos adicionales, la fracción de direccionamiento encefálico está

unida a una pluralidad de anticuerpos Sp35, fragmentos de anticuerpos, derivados y variantes de los mismos.

Una fracción de direccionamiento encefálico asociada con un anticuerpo Sp35, fragmento de anticuerpo, derivado o variante del mismo potencia el suministro encefálico de dichos anticuerpos Sp35, fragmentos de anticuerpos, derivados y variantes de los mismos. Se ha descrito una serie de polipéptidos que, cuando se fusionan con una proteína o agente terapéutico, suministran la proteína o el agente terapéutico a través de la barrera hematoencefálica (BHE). Los ejemplos no limitativos incluyen el anticuerpo de dominio único FC5 (Abulrob *et al.* (2005) *J. Neurochem.* 95, 1201-1214); AMc 83-14, un anticuerpo monoclonal para el receptor de insulina humana (Pardridge *et al.* (1995) *Pharmacol. Res.* 12, 807-816); los péptidos B2, B6 y B8 que se unen al receptor de transferrina humana (hTfR) (Xia *et al.* (2000) *J. Virol.* 74, 11359-11366); el anticuerpo monoclonal OX26 con el receptor de transferrina (Pardridge *et al.* (1991) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 259, 66-70); y las SEQ ID NO: 1-18 de la patente de EE. UU. n° 6.306.365.

El suministro encefálico mejorado de un anticuerpo Sp35, fragmento de anticuerpo, derivado o variante del mismo se determina por una serie de medios bien establecidos en la técnica. Por ejemplo, la administración a un animal de un anticuerpo Sp35 marcado por medios radiactivos, enzimáticos o por fluorescencia, fragmento de anticuerpo, derivado y variante del mismo unido a una fracción de direccionamiento encefálico; la determinación de una localización en el encéfalo; y la comparación de la localización con un anticuerpo Sp35 marcado por medios radiactivos, enzimáticos o por fluorescencia, derivado o variante del mismo que no está asociado con una fracción de direccionamiento encefálico. En las referencias anteriores se describen otros medios para determinar el direccionamiento mejorado.

Tal como se expone en otra parte en el presente documento, los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden fusionarse con polipéptidos heterólogos para aumentar la semivida *in vivo* de los polipéptidos o para el uso en inmunoensayos que usan procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, en un caso, PEG puede conjugarse con los anticuerpos Sp35 de la descripción para aumentar su semivida *in vivo*. Leong, S.R., *et al.*, *Cytokine* 16:106 (2001); *Adv. in Drug Deliv. Rev.* 54:531 (2002); o Weir *et al.*, *Biochem. Soc. Transactions* 30:512 (2002).

Por otra parte, los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden fusionarse con secuencias marcadoras, tales como un péptido para facilitar su purificación o detección. En casos preferentes, la secuencia de aminoácidos marcadora es un péptido de hexa-histidina, tal como la marca proporcionada en un vector pQE (QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, Calif., 91311), entre otros, muchas de las cuales están disponibles comercialmente. Tal como se describe en Gentz *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:821-824 (1989), por ejemplo, la hexa-histidina proporciona una purificación cómoda de la proteína de fusión. Otras marcas peptídicas útiles para purificación incluyen, pero no se limitan a, la marca "HA", que corresponde a un epítipo derivado de la proteína hemaglutinina de la gripe (Wilson *et al.*, *Cell* 37:767 (1984)) y la marca "flag".

Las proteínas de fusión pueden prepararse usando procedimientos que son bien conocidos en la técnica (véanse por ejemplo las patentes de EE. UU. n° 5.116.964 y 5.225.538). El sitio exacto en el que se realiza la fusión puede seleccionarse empíricamente para optimizar las características de secreción o unión de la proteína de fusión. A continuación, el ADN que codifica la proteína de fusión es transfectado en una célula hospedadora para su expresión.

Los anticuerpos Sp35 o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la presente descripción pueden usarse en forma no conjugada o pueden ser conjugados con al menos una de una diversidad de moléculas, por ejemplo, para mejorar las propiedades terapéuticas de la molécula, para facilitar la detección de diana o para estudios de imagen o terapia del paciente. Los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden marcarse o conjugarse antes o después de la purificación, cuando se realiza purificación.

En particular, los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden conjugarse con agentes terapéuticos, profármacos, péptidos, proteínas, enzimas, virus, lípidos, modificadores de la respuesta biológica, agentes farmacéuticos o PEG.

Los expertos en la materia observarán que los conjugados pueden ensamblarse también usando diversas técnicas dependiendo del agente seleccionado para conjugación. Por ejemplo, los conjugados con biotina se preparan por ejemplo mediante la reacción de un polipéptido de unión con un éster activado de biotina tal como el éster de N-hidroxisuccinimida de biotina. De forma similar, los conjugados con un marcador fluorescente pueden prepararse en presencia de un agente de copulación, por ejemplo, los enumerados en el presente documento, o por reacción con

un isotiocianato, preferentemente isotiocianato de fluoresceína. Los conjugados de los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción se preparan de una forma análoga.

- 5 La presente descripción comprende además anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción conjugados con un agente de diagnóstico o terapéutico. Los anticuerpos Sp35 pueden usarse de forma diagnóstica, por ejemplo, para vigilar el desarrollo o progresión de una enfermedad neurológica como parte de un procedimiento de pruebas clínicas, por ejemplo, para determinar la eficacia de un régimen de tratamiento y/o prevención dado. La detección puede facilitarse acoplado el anticuerpo Sp35, o
- 10 fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo a una sustancia detectable. Entre los ejemplos de sustancias detectables se incluyen varias enzimas, grupos protésicos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes, materiales bioluminiscentes, materiales radiactivos, metales de emisión de positrones usando varias tomografías por emisión de positrones y iones de metales paramagnéticos no radiactivos. Véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 4.741.900 para iones metálicos que pueden conjugarse con anticuerpos para el uso como
- 15 agentes de diagnóstico de acuerdo con la presente descripción. Entre los ejemplos de enzimas adecuadas se incluyen peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, β -galactosidasa o acetilcolinesterasa; entre los ejemplos de complejos de grupos protésicos adecuados se incluyen estreptavidina/biotina y avidina/biotina; entre los ejemplos de materiales fluorescentes adecuados se incluyen umbeliferona, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, diclorotriacilamina fluoresceína, cloruro de dansilo o ficoeritrina; un ejemplo de un material luminiscente
- 20 incluye luminol; entre los ejemplos de materiales bioluminiscentes se incluyen luciferasa, luciferina y aecurina; y entre los ejemplos de material radiactivo adecuado se incluyen ^{125}I , ^{131}I , ^{111}In o ^{99}Tc .

Un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo también puede marcarse de forma detectable por acoplamiento con un compuesto quimioluminiscente. La presencia del anticuerpo Sp35

25 marcado por quimioluminiscencia se determina a continuación mediante la detección de la presencia de luminiscencia que aparece durante el curso de una reacción química. Entre los ejemplos de compuestos de marcado quimioluminiscente particularmente útiles se incluyen luminol, isoluminol, éster de acridinio teromático, imidazol, sal de acridinio y éster de oxalato.

- 30 Una de las formas en que un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo puede marcarse de forma detectable es mediante la unión del mismo a una enzima y usando el producto enlazado con un inmunoensayo enzimático (EIA) (Voller, A., "The Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)" Microbiological Associates Quarterly Publication, Walkersville, Md., *Diagnostic Horizons* 2:1-7 (1978)); Voller *et al.*, *J. Clin. Pathol.* 31:507-520 (1978); Butler, J. E., *Meth. Enzymol.* 73:482-523 (1981); Maggio, E. (ed.), *Enzyme*
- 35 *Immunoassay*, CRC Press, Boca Raton, Fla., (1980); Ishikawa, E. *et al.*, (eds.), *Enzyme Immunoassay*, Kigaku Shoin, Tokio (1981). La enzima, que está unida al anticuerpo Sp35 reaccionará con un sustrato apropiado, preferentemente un sustrato cromógeno, de manera que produzca una fracción química que puede ser detectada, por ejemplo, por medios espectrofotométricos, fluorimétricos o visuales. Las enzimas que pueden usarse para marcar de forma detectable el anticuerpo incluyen, pero no se limitan a, malato deshidrogenasa, nucleasa estafilocócica, isomerasa
- 40 delta-5-esteroidea, alcohol deshidrogenasa de levadura, alfa-glicerofosfato, deshidrogenasa, fosfato de triosa isomerasa, peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, asparaginasa, glucosa oxidasa, beta-galactosidasa, ribonucleasa, ureasa, catalasa, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, glucoamilasa y acetilcolinesterasa. Además, la detección puede realizarse por procedimientos colorimétricos que emplean un sustrato cromógeno para la enzima. La detección puede realizarse también por comparación visual de la magnitud de la reacción enzimática de un
- 45 sustrato en comparación con patrones preparados de forma similar.

La detección puede realizarse también usando cualquiera de una diversidad de otros inmunoensayos. Por ejemplo, mediante marcado radiactivo del anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo, es posible detectar el anticuerpo a través del uso de un radioinmunoensayo (RIA) (véase, por ejemplo, Weintraub,

50 B., *Principles of Radioimmunoassays, Seventh Training Course on Radioligand Assay Techniques*, The Endocrine Society, (marzo, 1986)). El isótopo radiactivo puede detectarse por medios que incluyen, pero no se limitan a, un contador gamma, un contador de centelleo o una autorradiografía.

Un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo puede marcarse también de

55 forma detectable usando metales de emisión de fluorescencia tales como ^{152}Eu , u otros de la serie de los lantánidos. Estos metales pueden unirse al anticuerpo usando grupos quelantes metálicos como ácido dietilentriaminopentacético (DTPA) o ácido etilendiamintetraacético (EDTA).

Las técnicas para conjugación de diversas fracciones a un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno,

60 variante o derivado del mismo son bien conocidas, véase, por ejemplo, Arnon *et al.*, "Monoclonal Antibodies For

- Inmunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", en *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy*, Reisfeld *et al.* (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. (1985); Hellstrom *et al.*, "Antibodies For Drug Delivery", en *Controlled Drug Delivery* (2^a ed.), Robinson *et al.* (eds.), Marcel Dekker, Inc., pág. 623-53 (1987); Thorpe, "Antibody Vehicles Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", en *Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications*, Pinchera *et al.* (eds.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", en *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy*, Baldwin *et al.* (eds.), Academic Press pág. 303-16 (1985), y Thorpe *et al.*, "The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates", *Immunol. Rev.* 62:119-58 (1982).

10 VII. EXPRESIÓN DE POLIPÉPTIDOS DE ANTICUERPOS

Como es bien conocido, el ARN puede aislarse de las células originales de hibridoma o de otras células transformadas por técnicas estándar, tales como extracción de isotiocianato de guanidinio y precipitación seguido por centrifugación o cromatografía. Cuando resulta deseable, el ARNm puede aislarse a partir del ARN total por técnicas estándar tales como cromatografía en oligo dT celulosa. Las técnicas adecuadas son familiares en la técnica.

En un caso, los ADNc que codifican las cadenas ligeras y pesadas del anticuerpo pueden prepararse, simultáneamente o por separado, usando transcriptasa inversa y ADN polimerasa de acuerdo con procedimientos bien conocidos. Puede iniciarse una PCR con cebadores de región constante de consenso o mediante cebadores más específicos basados en las secuencias publicadas de ADN y aminoácidos de cadena pesada y ligera. Tal como se expone anteriormente, la PCR puede usarse también para aislar clones de ADN que codifican las cadenas ligeras y pesadas de anticuerpo. En este caso pueden cribarse las bibliotecas mediante cebadores de consenso o sondas homólogas más grandes, tales como sondas de región constante de ratón.

El ADN, normalmente ADN de plásmico, puede aislarse a partir de las células usando técnicas conocidas en la técnica, restricción cartografiada y secuenciada de acuerdo con técnicas estándar bien conocidas expuestas en detalle, por ejemplo, en las referencias anteriores en relación con técnicas de ADN recombinante. Naturalmente, el ADN puede ser sintético en cualquier punto durante el procedimiento de aislamiento o el análisis posterior.

Después de la manipulación del material genético aislado para proporcionar anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción, los polinucleótidos que codifican los anticuerpos Sp35 se insertan normalmente en un vector de expresión para su introducción en células hospedadoras que pueden usarse para producir la cantidad deseada de anticuerpo Sp35.

La expresión recombinante de un anticuerpo, o fragmento, derivado o análogo de los mismos, por ejemplo, una cadena pesada o ligera de un anticuerpo que se une a una molécula diana descrita en el presente documento, por ejemplo, Sp35, requiere la construcción de un vector de expresión que contiene un polinucleótido que codifica el anticuerpo. Una vez que se ha obtenido un polinucleótido que codifica una molécula de anticuerpo o una cadena pesada o ligera de un anticuerpo, o una porción del mismo (preferentemente que contiene el dominio variable de la cadena pesada o ligera), de la descripción, el vector para la producción de la molécula de anticuerpo puede producirse por tecnología de ADN recombinante usando técnicas bien conocidas en la técnica. Así, en el presente documento se describen los procedimientos para preparar una proteína mediante la expresión de un polinucleótido que contiene un anticuerpo que codifica secuencias de nucleótidos. Pueden usarse procedimientos que son bien conocidos para los expertos en la materia para construir vectores de expresión que contienen secuencias codificantes de anticuerpos y señales de control transcripcional y traduccional adecuadas. Entre estos procedimientos se incluyen, por ejemplo, técnicas de ADN recombinante *in vitro*, técnicas sintéticas y recombinación genética *in vivo*. La descripción proporciona así vectores replicables que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica una molécula de anticuerpo de la descripción, o una cadena pesada o ligera de los mismos, o un dominio variable de cadena pesada o ligera, unidos operativamente a un promotor. Dichos vectores pueden incluir la secuencia de nucleótidos que codifica la región constante de la molécula de anticuerpo (véase, por ejemplo, la publicación PCT WO-86/05807; la publicación PCT WO-89/01036; y la patente de EE. UU. nº 5.122.464) y el dominio variable del anticuerpo puede clonarse en dicho vector para la expresión de la cadena pesada o ligera completa.

La célula hospedadora puede ser cotransfectada con dos vectores de expresión de la descripción, codificando el primer vector un polipéptido derivado de la cadena pesada y codificando el segundo vector un polipéptido derivado de la cadena ligera. Los dos vectores pueden contener marcadores seleccionables idénticos que permiten una expresión igual de los polipéptidos de cadena pesada y ligera. Alternativamente, puede usarse un único vector que codifica los polipéptidos de la cadena pesada y de la cadena ligera. En estas situaciones, la cadena ligera se coloca ventajosamente antes de la cadena pesada para evitar un exceso de cadena pesada libre tóxica (Proudfoot, *Nature*

322:52 (1986); Kohler, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:2197 (1980)). Las secuencias codificantes para las cadenas pesadas y ligeras pueden comprender ADNc o ADN genómico.

5 El término "vector" o la expresión "vector de expresión" se usan en el presente documento para referirse a vectores usados de acuerdo con la presente descripción como un vehículo para introducir y expresar un gen deseado en una célula hospedadora. Tal como conocen los expertos en la materia, dichos vectores pueden seleccionarse fácilmente de entre el grupo que consiste en plásmidos, fagos, virus y retrovirus. En general, los vectores compatibles con la presente descripción comprenderán un marcador de selección, sitios de restricción apropiados para facilitar la clonación del gen deseado y la capacidad de entrar y/o replicarse en células eucariotas o procariotas.

10 Para los fines de la presente descripción, pueden emplearse numerosos sistemas de vectores de expresión. Por ejemplo, una clase de vector usa elementos de ADN que se obtienen de virus de animales tales como virus del papiloma bovino, virus del poliovirus, adenovirus, virus vaccinia, baculovirus, retrovirus (RSV, MMTV o MOMLV) o virus SV40. Otros implican el uso de sistemas policistrónicos con sitios de unión a ribosomas internos. Además,
15 pueden seleccionarse células que han integrado el ADN en sus cromosomas introduciendo uno o más marcadores que permiten la selección de células hospedadoras transfectadas. El marcador puede proporcionar para prototrofia a un hospedador auxotrófico, resistencia a biocidas (por ejemplo, antibióticos) o resistencia a metales pesados como el cobre. El gen marcador seleccionable puede estar ligado directamente a las secuencias de ADN para su expresión o introducirse en la misma célula por cotransformación. También pueden necesitarse elementos
20 adicionales para la síntesis óptima de ARNm. Estos elementos pueden incluir secuencias señal, señales de splice, así como promotores transcripcionales, potenciadores y señales de terminación.

En casos particularmente preferentes los genes clonados de región variable se insertan en un vector de expresión junto con los genes de región constante de cadena pesada y ligera (preferentemente humanos) sintéticos tal como
25 se expone anteriormente. En un caso, esto se realiza usando un vector de expresión de propiedad exclusiva de Biogen IDEC, Inc., referido como NEOSPLA (patente de EE. UU. 6.159.730). Este vector contiene el promotor/potenciador de citomegalovirus, el promotor principal de globina beta de ratón, el origen de replicación SV40, la secuencia de poliadenilación de la hormona de crecimiento bovino, el exón 1 y el exón 2 de neomicina fosfotransferasa, el gen de dihidrofolato reductasa y una secuencia delantera. Se ha encontrado que este vector
30 produce una expresión de anticuerpos de muy alto nivel tras la incorporación de genes de regiones variables y constantes, transfección en células CHO, seguido por selección en G418 que contiene medio y amplificación de metotrexato. Naturalmente, en la presente invención puede usarse cualquier vector de expresión que sea capaz de provocar la expresión en células eucariotas. Entre los ejemplos de vectores adecuados se incluyen, pero no se limitan a plásmidos pcDNA3, pHCMV/Zeo, pCR3.1, pEF1/His, pIND/GS, pRc/HCMV2, pSV40/Ze02, pTRACER-
35 HCMV, pUB6/V5-His, pVAX1 y pZeoSV2 (disponibles en Invitrogen, San Diego, CA), y plásmido pCI (disponible en Promega, Madison, WI). En general, el cribado de grandes cantidades de células transformadas para las cuales se expresan niveles adecuadamente elevados de cadenas pesadas y ligeras de inmunoglobulina es una experimentación de rutina que puede ser realizada, por ejemplo, por sistemas robóticos. También se enseñan sistemas de vectores en las patentes de EE. UU. n° 5.736.137 y 5.658.570. Este sistema proporciona altos niveles
40 de expresión, por ejemplo, > 30 pg/célula/día. Otros sistemas de vectores de ejemplo se describen, por ejemplo, en la patente de EE. UU. 6.413.777.

En otros casos preferentes los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden expresarse usando construcciones policistrónicas tales como las descritas en la
45 publicación de solicitud de patente de los Estados Unidos n° 2003-0157641 A1, presentada el 8 de noviembre de 2002. En estos nuevos sistemas de expresión, pueden producirse múltiples productos génicos de interés tales como cadenas pesadas y ligeras de anticuerpos a partir de una única construcción policistrónica. Estos sistemas usan ventajosamente un sitio de entrada de ribosomas interno (IRES) para proporcionar niveles relativamente altos de anticuerpos Sp35, por ejemplo, polipéptidos de unión, por ejemplo, anticuerpos específicos Sp35 o fragmentos
50 inmunoespecíficos de los mismos en células hospedadoras eucariotas. Las secuencias IRES compatibles se describen en la patente de EE. UU. n° 6.193.980. Los expertos en la materia observarán que dichos vectores de expresión pueden usarse para producir de manera efectiva el conjunto completo de anticuerpos Sp35 descritos en la presente solicitud.

55 Más en general, una vez que se ha preparado el vector o secuencia de ADN que codifica una subunidad monomérica del anticuerpo Sp35, el vector de expresión puede introducirse en una célula hospedadora apropiada. La introducción del plásmido en la célula hospedadora puede realizarse mediante diversas técnicas bien conocidas por los expertos en la materia. Entre estas se incluyen, pero no se limitan a, transfección (incluyendo electroforesis y electroporación), fusión de protoplastos, precipitación de fosfato de calcio, fusión celular con ADN de envoltura,
60 microinyección e infección con virus intacto. Véase, Ridgway, A. A. G. "Mammalian Expression Vectors" Vectors,

Rodriguez y Denhardt, eds., Butterworths, Boston, Mass., capítulo 24.2, pág. 470-472 (1988). Normalmente, la introducción de plásmicos en el hospedador se realiza por electroporación. Las células hospedadoras que alojan la construcción de expresión se cultivan en condiciones apropiadas para la producción de las cadenas ligeras y las cadenas pesadas, y se someten a ensayo para la síntesis de proteínas de cadena pesada y/o ligera. Entre las técnicas de ensayo de ejemplo se incluyen ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA), radioinmunoensayo (RIA) o análisis de clasificación celular activado por fluorescencia (FACS), inmunohistoquímica y similares.

El vector de expresión es transferido a una célula hospedadora por técnicas convencionales y las células transfectadas se cultivan a continuación por técnicas convencionales para producir un anticuerpo para el uso en los procedimientos descritos en el presente documento. Así, la descripción incluye células hospedadoras que contienen un polinucleótido que codifica un anticuerpo de la descripción, o una cadena pesada o ligera del mismo, ligado operativamente a un promotor heterólogo. En casos preferentes para la expresión de anticuerpos bicatenarios, los vectores que codifican las cadenas pesadas y las cadenas ligeras pueden coexpresarse en la célula hospedadora para la expresión de la molécula de inmunoglobulina completa, como se detalla más adelante.

Tal como se usa en el presente documento, "células hospedadoras" hace referencia a células que alojan vectores contruidos usando técnicas de ADN recombinante y que codifican al menos un gen heterólogo. En las descripciones de procedimientos para el aislamiento de anticuerpos a partir de hospedadores recombinantes, las expresiones "célula" y "cultivo celular" se usan indistintamente para denotar la fuente de anticuerpo salvo que se especifique claramente lo contrario. Dicho de otro modo, la recuperación de polipéptidos de las "células" puede proceder del centrifugado de células enteras o del cultivo de células que contiene el medio y las células en suspensión.

Puede usarse una variedad de sistemas de vectores de expresión de hospedador para expresar moléculas de anticuerpo para su uso en los procedimientos descritos en el presente documento. Dichos sistemas de expresión de hospedador representan vehículos mediante los cuales las secuencias codificantes de interés pueden producirse y purificarse posteriormente, pero también representan células que, cuando son transformadas o transfectadas con las secuencias codificantes de nucleótidos apropiadas, expresan una molécula de anticuerpo de la descripción *in situ*. Entre ellas se incluyen pero no se limitan a microorganismos como bacterias (por ejemplo, *E. coli*, *B. subtilis*) transformadas con ADN bacteriófago recombinante, vectores de expresión de ADN de plásmido o ADN de cósmido que contienen secuencias codificantes de anticuerpos; levadura (por ejemplo, *Saccharomyces*, *Pichia*) transformada con vectores de expresión de levadura recombinantes que contienen secuencias codificantes de anticuerpos; sistemas de células de insectos infectados con vectores de expresión de virus recombinantes (por ejemplo, baculovirus) que contienen secuencias codificantes de anticuerpos; sistemas de células de plantas infectados con vectores de expresión de virus recombinantes (por ejemplo, virus del mosaico de la coliflor, CaMV; virus del mosaico del tabaco, TMV) o transformados con vectores de expresión de plásmidos recombinantes (por ejemplo, plásmido Ti) que contienen secuencias codificantes de anticuerpos; o sistemas de células de mamífero (por ejemplo, células COS, CHO, BLK, 293, 3T3) que alojan construcciones de expresión recombinantes que contienen promotores obtenidos del genoma de células de mamífero (por ejemplo, promotor de metalotioneína) o de virus de mamífero (por ejemplo, el promotor tardío de adenovirus; el promotor de virus vaccinia 7.5K). Preferentemente, se usan células bacterianas como *Escherichia coli*, y más preferentemente, células eucariotas, especialmente para la expresión de molécula de anticuerpo recombinante, para la expresión de una molécula de anticuerpo recombinante. Por ejemplo, las células de mamífero tales como células de ovario de hámster chino (CHO), en conjunción con un vector tal como el elemento principal de gen temprano intermedio del citomegalovirus humano constituyen un sistema de expresión efectivo para los anticuerpos (Foecking *et al.*, *Gene* 45:101 (1986); Cockett *et al.*, *Bio/Technology* 8:2 (1990)).

La línea celular del hospedador usada para expresión de proteínas tiene a menudo un origen de mamífero; los expertos en la materia tienen la capacidad de determinar preferentemente líneas celulares de hospedador particulares que son las mejor adaptadas para la expresión en las mismas del producto génico deseado. Entre las líneas celulares de hospedador de ejemplo, se incluyen, pero no se limitan a, CHO (ovario de hámster chino), DG44 y DUXB11 (líneas de ovario de hámster chino, DHFR menos), HELA (carcinoma de cuello uterino humano), CV1 (línea renal de mono), COS (un derivado de CV1 con antígeno T SV40), VERY, BHK (riñón de cría de hámster), MDCK, 293, WI38, R1610 (fibroblasto de hámster chino) BALBC/3T3 (fibroblasto de ratón), HAK (línea renal de hámster), SP2/O (mieloma de ratón), P3x63-Ag3.653 (mieloma de ratón), BFA-1c1BPT (células endoteliales bovinas), RAJI (linfocito humano) y 293 (riñón humano). Se prefieren particularmente las células CHO. Las líneas celulares de hospedador están disponibles normalmente en los servicios comerciales, la American Tissue Culture Collection o la bibliografía publicada.

Además, puede elegirse una cepa de célula hospedadora que module la expresión de las secuencias insertadas, o

modifique y procese el producto génico en la forma específica deseada. Dichas modificaciones (por ejemplo, glucosilación) y procesamiento (por ejemplo, escisión) de productos de proteínas pueden ser importantes para la función de la proteína. Diferentes células hospedadoras tienen mecanismos característicos y específicos para el procesamiento postraduccional y la modificación de proteínas y productos génicos. Pueden elegirse líneas celulares o sistemas hospedadores adecuados para garantizar la modificación y procesamiento correctos de la proteína extraña expresada. Para este fin, pueden usarse células hospedadoras eucariotas que poseen la maquinaria celular para el procesamiento apropiado de la transcripción primaria, la glucosilación y la fosforilación del producto génico.

Para la producción de alto rendimiento a largo plazo de proteínas recombinantes, se prefiere una expresión estable. Por ejemplo, pueden diseñarse líneas celulares que expresan de forma estable la molécula de anticuerpo. En lugar de usar vectores de expresión que contienen orígenes víricos de replicación, pueden transformarse las células hospedadoras con ADN controlado por elementos de control de expresión apropiados (por ejemplo, promotor, potenciador, secuencias, terminadores de transcripción, sitios de poliadenilación, etc.) y un marcador seleccionable. Después de la introducción del ADN extraño, puede permitirse el desarrollo de células diseñadas durante 1-2 días en un medio enriquecido, y a continuación se cambia a un medio selectivo. El marcador seleccionable en el plásmido recombinante confiere resistencia a la selección y permite que las células integren de manera estable el plásmido en sus cromosomas y se desarrollen para formar focos que a su vez pueden ser clonados y expandirse en líneas celulares. Este procedimiento puede usarse ventajosamente para diseñar líneas celulares que expresan de forma estable la molécula de anticuerpo.

Puede usarse una serie de sistemas de selección, que incluyen, pero no se limitan al virus del herpes simple (Wigler *et al.*, *Cell* 11:223 (1977)), pueden emplearse genes de timidina cinasa hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (Szybalska & Szybalski, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 48:202 (1992)) y adenina fosforribosiltransferasa (Lowy *et al.*, *Cell* 22:817 (1980)) en células tk, hgprt o aprt, respectivamente. Además, puede usarse resistencia a antimetabolitos como base de la selección de los siguientes genes: dhfr, que confiere resistencia a metotrexato (Wigler *et al.*, *Natl. Acad. Sci. USA* 77:357 (1980); O'Hare *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:1527 (1981)); gpt, que confiere resistencia al ácido micofenólico (Mulligan & Berg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:2072 (1981)); neo, que confiere resistencia al aminoglucósido G-418 *Clinical Pharmacy* 12:488-505; Wu y Wu, *Biotherapy* 3:87-95 (1991); Tolstoshev, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 32:573-596 (1993); Mulligan, *Science* 260:926-932 (1993); y Morgan y Anderson, *Ann. Rev. Biochem.* 62:191-217 (1993), TIB TECH 11(5):155-215 (mayo de 1993); e higo, que confiere resistencia a la higromicina (Santerre *et al.*, *Gene* 30:147 (1984)). Los procedimientos conocidos comúnmente en la técnica de la tecnología de ADN recombinante que pueden usarse se describen en Ausubel *et al.* (eds.), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY (1993); Kriegler, *Gene Transfer and Expression*, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990); y en los capítulos 12 y 13, Dracopoli *et al.* (eds), *Current Protocols in Human Genetics*, John Wiley & Sons, NY (1994); Colberre-Garapin *et al.*, *J. Mol. Biol.* 150:1 (1981).

Los niveles de expresión de una molécula de anticuerpo pueden incrementarse mediante amplificación de vectores (véase una revisión en Bebbington y Hentschel, *The use of vectors based on gen amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in ADN cloning*, Academic Press, Nueva York, Vol. 3. (1987)). Cuando un marcador en el sistema de vector que expresa el anticuerpo es amplificable, el aumento en el nivel de inhibidor presente en el cultivo de células hospedadoras incrementará el número de copias del gen marcador. Dado que la región amplificada se asocia con el gen del anticuerpo, la producción del anticuerpo también aumentará (Crouse *et al.*, *Mol. Cell. Biol.* 3:257 (1983)).

La producción *in vitro* permite el aumento de escala para producir grandes cantidades de los polipéptidos deseados. Las técnicas para el cultivo de células de mamíferos en condiciones de cultivo tisular son conocidas en la técnica e incluyen cultivo en suspensión homogénea, por ejemplo, en un reactor de levantamiento de aire o en un reactor con agitador continuo, o cultivo celular inmovilizado o atrapado, por ejemplo, en fibras huecas, microcápsulas, microperlas de agarosa o cartuchos de cerámica. Si es necesario y/o se desea, las soluciones de polipéptidos pueden purificarse por procedimientos de cromatografía habituales, por ejemplo, filtración de gel, cromatografía de intercambio de iones, cromatografía sobre DEAE-celulosa o cromatografía de (inmuno-)afinidad, por ejemplo, después de biosíntesis preferente de un polipéptido sintético de región bisagra o antes o después de la etapa de cromatografía HIC descrita en el presente documento.

Los genes que codifican anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden expresar también células no de mamífero como células de bacterias o levaduras o plantas. Entre las bacterias que captan fácilmente ácidos nucleicos se incluyen miembros de las enterobacteriáceas, tales como cepas de *Escherichia coli* o *Salmonella*; Bacillaceae, tales como *Bacillus subtilis*; *Pneumococcus*; *Streptococcus* y *Haemophilus influenzae*. Se observará además que, cuando se expresan en bacterias, los polipéptidos heterólogos normalmente se hacen parte de cuerpos de inclusión. Los polipéptidos heterólogos deben

ser aislados, purificados y después ensamblados en moléculas funcionales. Cuando se desean formas tetravalentes de anticuerpos, las subunidades se ensamblarán después en anticuerpos tetravalentes (documento WO02/096948A2).

- 5 En sistemas bacterianos, puede seleccionarse ventajosamente una serie de vectores de expresión seleccionados dependiendo del uso pretendido para la molécula de anticuerpo que se expresa. Por ejemplo, cuando se va a producir una gran cantidad de dicha proteína, para la generación de composiciones farmacéuticas de una molécula de anticuerpo, pueden ser deseables vectores que dirigen la expresión de altos niveles de productos de proteínas de fusión que son purificados fácilmente. Dichos vectores incluyen, pero no se limitan a, el vector de expresión de *E. coli* pUR278 (Ruther *et al.*, *EMBO J.* 2:1791 (1983)), en el que la secuencia codificante de anticuerpo puede ligarse individualmente en el vector en el marco con la región codificante lacZ de manera que se produce una proteína de fusión; los vectores pIN (Inouye & Inouye, *Nucleic Acids Res.* 13:3101-3109 (1985); Van Heeke & Schuster, *J. Biol. Chem.* 24:5503-5509 (1989)); y similares. Los vectores pGEX pueden usarse también para expresar polipéptidos extraños como proteínas de fusión con glutatión S-transferasa (GST). En general, dichas proteínas de fusión son solubles y pueden purificarse fácilmente a partir de células lisadas por adsorción y unión a perlas de glutatión-agarosa de matriz seguido por elución en presencia de glutatión libre. Los vectores pGEX se diseñan de manera que incluyan sitios de escisión de trombina o factor Xa proteasa de modo que el producto génico diana clonado pueda ser liberado en la fracción GST.
- 20 Además de procariontes, también pueden usarse microbios eucariotas. Entre los microorganismos eucariotas el más utilizado es *Saccharomyces cerevisiae*, o levadura de panadero común, aunque comúnmente se dispone de otras cepas diversas como, por ejemplo, *Pichia pastoris*.

Para la expresión en *Saccharomyces* se usa comúnmente el plásmido YRp7, por ejemplo, (Stinchcomb *et al.*, *Nature* 282:39 (1979); Kingsman *et al.*, *Gene* 7:141 (1979); Tschemper *et al.*, *Gene* 10:157 (1980)). Este plásmido ya contiene el gen TRP1 que proporciona un marcador de selección para una cepa mutante de levadura que carece de la capacidad de desarrollarse en triptófano, por ejemplo, nº ATCC 44076 o PEP4-1 (Jones, *Genetics* 85:12 (1977)). La presencia de la lesión trp1 es una característica del genoma de célula hospedadora de levadura que proporciona un entorno efectivo para detectar la transformación por crecimiento en ausencia de triptófano.

30 En un sistema de insectos se usa normalmente el virus de poliedrosis nuclear de *Autographa californica* (AcNPV) como vector para expresar genes extraños. El virus crece en células de *Spodoptera frugiperda*. La secuencia codificante del anticuerpo puede clonarse individualmente en regiones no esenciales (por ejemplo, el gen de la poliedrina) del virus y colocarse bajo el control de un promotor de AcNPV (por ejemplo, el promotor de poliedrina).

35 Una vez que se ha expresado de forma recombinante una molécula de anticuerpo de la descripción, puede purificarse por cualquier procedimiento conocido en la técnica para purificación de una molécula de inmunoglobulina, por ejemplo, por cromatografía (por ejemplo, intercambio de iones, afinidad, particularmente por afinidad para el antígeno específico después de Proteína A y cromatografía de dimensionamiento de columna), centrifugado, solubilidad diferencial o por cualquier otra técnica estándar para la purificación de proteínas. Alternativamente, se describe un procedimiento preferente para aumentar la afinidad de los anticuerpos de la descripción en el documento US 2002 0123057 A1.

VIII. PROCEDIMIENTOS DE TRATAMIENTO QUE USAN ANTICUERPOS Sp35 TERAPÉUTICOS

45 Tal como se describe en el presente documento, los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden aliviar la inhibición mediada por NgR1 de la extensión axonal que tiene lugar normalmente en las neuronas del SNC. Esto es beneficioso en situaciones en las que la extensión axonal o el brote de neuritas son necesarios en el encéfalo o la médula espinal. La lesión de la médula espinal, que incluye aplastamiento o rotura parcial o completa ilustra una situación en la que se necesita extensión axonal, pero normalmente está inhibida a través del funcionamiento de la vía Nogo. Entre los ejemplos de enfermedades o trastornos en los que extensión axonal y/o el brote de neuritas en el encéfalo serían beneficiosos se incluyen accidente cerebrovascular, esclerosis múltiple y otras enfermedades o trastornos neurodegenerativos tales como esclerosis múltiple (EM), leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP), encefalomiелitis (EPL), mielínolisis pontina central (MPC), adrenoleucodistrofia, enfermedad de Alexander, enfermedad de Pelizaeus Merzbacher (PMZ), leucodistrofia de células globoides (enfermedad de Krabbe) y degeneración walleriana, neuritis óptica, mielitis transversa, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, lesión de la médula espinal, lesión por traumatismo craneoencefálico, lesión post-radiación, complicaciones neurológicas de la quimioterapia, accidente cerebrovascular, neuropatía, neuropatía óptica

60 isquémica aguda, deficiencia de vitamina E, síndrome de deficiencia de vitamina E aislado, AR, síndrome de

Bassen-Kornzweig, síndrome de Marchiafava-Bignami, leucodistrofia metacromática, neuralgia del trigémino, parálisis de Bell, lesión de la médula espinal y todas las enfermedades neurológicas relacionadas con la muerte de células neuronales.

- 5 Los autores de la invención han descubierto además que Sp35 se expresa en oligodendrocitos, y contribuye a la biología de los oligodendrocitos. Los derivados solubles de Sp35, ciertos polinucleótidos (por ejemplo, ARNi), así como ciertos anticuerpos que se unen específicamente a Sp35, tal como se describe en el presente documento actúan como antagonistas de la función de Sp35 en los oligodendrocitos, promoviendo la proliferación, la diferenciación y la supervivencia de oligodendrocitos y promoviendo la mielinización de neuronas *in vitro* e *in vivo*.
- 10 Esto resulta beneficioso en enfermedades, trastornos o afecciones que implican desmielinización y dismielinización. Entre los ejemplos de enfermedades o trastornos en los que la proliferación, diferenciación y supervivencia de oligodendrocitos, y/o la mielinización o remielinización serían beneficiosas se incluyen esclerosis múltiple (EM), leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP), encefalomiелitis (EPL), mielinólisis pontina central (MPC), adrenoleucodistrofia, enfermedad de Alexander, enfermedad de Pelizaeus Merzbacher (PMZ), leucodistrofia de células globoides (enfermedad de Krabbe), degeneración walleriana, neuritis óptica, mielitis transversa, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, lesión de la médula espinal, lesión por traumatismo craneoencefálico, lesión post-radiación, complicaciones neurológicas de la quimioterapia, accidente cerebrovascular, neuropatía óptica isquémica aguda, deficiencia de vitamina E, síndrome de deficiencia de vitamina E aislado, AR, síndrome de Bassen-Kornzweig, síndrome de Marchiafava-Bignami,
- 15 20 leucodistrofia metacromática, neuralgia del trigémino y parálisis de Bell.

Por consiguiente, un aspecto de la presente descripción proporciona procedimientos para tratar lesiones de la médula espinal, enfermedades o trastornos asociados con la inhibición del crecimiento neuronal en el SNC, enfermedades o trastornos asociados con la inhibición del crecimiento o diferenciación de oligodendrocitos y

25 enfermedades que implican desmielinización o dismielinización de neuronas del SNC en un animal que sufre dicha lesión o enfermedad o está predispuesto a contraer dicha enfermedad, comprendiendo el procedimiento, consistiendo esencialmente en o consistiendo en la administración al animal de una cantidad efectiva de un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo. En el presente documento se describen anticuerpos de la descripción, e incluyen los anticuerpos monoclonales enumerados en la tabla 3A y 3B,

30 los anticuerpos que se unen específicamente al mismo epitopo que los anticuerpos monoclonales enumerados en la tabla 3A y 3B, los anticuerpos que inhiben competitivamente la unión de los anticuerpos monoclonales enumerados en la tabla 3A y 3B a Sp35 y los anticuerpos que comprenden polipéptidos derivados de los anticuerpos monoclonales enumerados en la tabla 3A y 3B.

- 35 Un anticuerpo Sp35 terapéutico que se usará en los procedimientos de tratamiento descritos en el presente documento puede prepararse y usarse como un agente terapéutico que promueve el crecimiento de neuritas en el SNC, la supervivencia neuronal, la orientación axonal y la regeneración axonal, que promueve la supervivencia, crecimiento y/o diferenciación de oligodendrocitos y que promueve la mielinización o remielinización de neuronas del SNC. Entre las características de anticuerpos Sp35 terapéuticos adecuados se incluyen: unión a epítomos Sp35 que
- 40 producen el bloqueo de la actividad de Sp35, unión a Sp35 con suficiente afinidad para provocar un efecto terapéutico y unión a Sp35 preferentemente para parejas de unión normales como, por ejemplo, receptor Nogo.

Los anticuerpos Sp35 terapéuticos pueden ser anticuerpos monoclonales, quiméricos o humanizados, o fragmentos de anticuerpos que se unen específicamente a Sp35. Los anticuerpos pueden ser anticuerpos monovalentes,

45 bivalentes, polivalentes o bifuncionales. Los fragmentos de anticuerpos incluyen sin limitación fragmentos Fab F(ab')₂ y Fv.

Los anticuerpos Sp35 terapéuticos, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de acuerdo con la descripción pueden usarse en forma no marcada o no conjugada, o pueden estar acoplados o

50 enlazados con fármacos, etiquetas o agentes de estabilización que pueden ejercer o no efectos terapéuticos adicionales.

La pauta posológica y terapéutica específica para cualquier paciente en particular dependerá de diversos factores, que incluyen el anticuerpo Sp35 en particular, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo usado, la edad del paciente, el peso corporal, el estado general de salud, el sexo y la dieta y el tiempo de

55 administración, la velocidad de excreción, la combinación de fármacos y la gravedad de la enfermedad en particular que se trata. La valoración de estos factores por los cuidadores médicos está dentro del ámbito de los expertos en la materia. La cantidad dependerá también del paciente individual sometido a tratamiento, la vía de administración, el tipo de formulación, las características del compuesto usado, la gravedad de la enfermedad y el efecto deseado. La

60 cantidad usada puede determinarse por principios farmacológicos y farmacocinéticos bien conocidos en la técnica.

En los procedimientos de la descripción los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos pueden administrarse directamente al sistema nervioso, por vía intracerebroventricular o intratecal, por ejemplo, en una lesión crónica de EM, tal como se expone en mayor detalle más adelante.

5

En varios casos, un anticuerpo Sp35 tal como se describe anteriormente es un antagonista de la actividad Sp35. En algunos casos, por ejemplo, la unión de un anticuerpo Sp35 antagonista a Sp35, tal como se expresa en las neuronas, bloquea la inhibición del crecimiento de neuritas asociada a la mielina o la muerte de las células neuronales. En otros casos, la unión del anticuerpo Sp35 a Sp35, tal como se expresa en los oligodendrocitos, bloquea la inhibición del crecimiento o diferenciación de oligodendrocitos, o bloquea la desmielinización o dismielinización de las neuronas del SNC.

En los procedimientos de la presente descripción, un anticuerpo Sp35, o un fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo, en particular los anticuerpos Sp35 descritos en el presente documento, puede administrarse directamente como un polipéptido preformado, o indirectamente a través de un vector de ácido nucleico, para permitir el crecimiento axonal beneficioso, promover la proliferación, diferenciación y supervivencia de oligodendrocitos y/o promover la mielinización o remielinización.

En algunos casos, un sujeto puede ser tratado con una molécula de ácido nucleico que codifica un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o análogo del mismo, por ejemplo, en un vector. Las dosis de ácidos nucleicos que codifican polipéptidos están comprendidas entre aproximadamente 10 ng y 1 g, 100 ng y 100 mg, 1 µg y 10 mg o 30-300 µg de ADN por paciente. Las dosis para vectores víricos infecciosos varían de 10-100, o más, viriones por dosis.

En algunos casos de la presente descripción un anticuerpo Sp35, o un fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo se administra en un procedimiento de tratamiento que incluye: (1) la transformación o transfección de una célula hospedadora implantable con un ácido nucleico, por ejemplo, un vector, que expresa un anticuerpo Sp35, o un fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo; y (2) la implantación de la célula hospedadora transformada en un mamífero, en el sitio de una enfermedad, trastorno o lesión. Por ejemplo, la célula hospedadora transformada puede implantarse en el sitio de una lesión de la médula espinal o en un sitio de dismielinización. En algunos casos de la descripción la célula hospedadora implantable se extrae de un mamífero, cultivada temporalmente, transformada o transfectada con un ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo Sp35, y se implanta de nuevo en el mismo mamífero del que se extrajo. La célula puede ser extraída, aunque no se requiere que lo sea, del mismo sitio en el que se implanta. Dichos casos, conocidos en ocasiones como terapia génica *ex vivo*, pueden proporcionar un suministro continuo del polipéptido Sp35, localizado en el sitio de acción, durante un periodo de tiempo limitado.

Los procedimientos para tratar una lesión de la médula espinal, enfermedades o trastornos asociados con la inhibición del crecimiento neuronal en el SNC, enfermedades o trastornos asociados con la inhibición del crecimiento o diferenciación de oligodendrocitos, y enfermedades que implican desmielinización o dismielinización de neuronas del SNC que comprenden la administración de un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo se prueban normalmente *in vitro*, y después *in vivo* en un modelo animal aceptable, para valorar la actividad terapéutica o profiláctica deseada, antes de su uso en seres humanos. Los modelos animales adecuados, incluidos animales transgénicos, son bien conocidos para los expertos en la materia. Por ejemplo, los ensayos *in vitro* para mostrar la utilidad terapéutica del anticuerpo Sp35 descrito en el presente documento incluyen el efecto de un anticuerpo Sp35 en una línea celular o una muestra de tejido del paciente. El efecto del anticuerpo Sp35 en la línea celular y/o la muestra de tejido puede determinarse usando técnicas conocidas por los expertos en la materia, tales como los ensayos descritos en otra parte en el presente documento. De acuerdo con la descripción entre los ensayos *in vitro* que pueden usarse para determinar si la administración de un anticuerpo Sp35 específico está indicada se incluyen ensayos de cultivo celular *in vitro* en los que se hace crecer en cultivo una muestra de tejido del paciente, y se expone o se administra de otro modo un compuesto, y se observa el efecto de dicho compuesto en la muestra de tejido.

También pueden incorporarse compuestos activos suplementarios en las composiciones de la descripción. Por ejemplo, un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo de la descripción puede formularse y/o administrarse conjuntamente con uno o más agentes terapéuticos adicionales.

La descripción comprende cualquier procedimiento de suministro adecuado para un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo de la descripción a un tejido diana seleccionado, que incluye inyección de bolo de una solución acuosa o implantación de un sistema de liberación controlada. El uso de un

implante de liberación controlada reduce la necesidad de inyecciones repetidas.

IX. COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS Y PROCEDIMIENTOS DE ADMINISTRACIÓN

- 5 Los procedimientos de preparación y administración de anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción a un sujeto que los necesita son bien conocidos o son fáciles de determinar para los expertos en la materia. La vía de administración del anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo puede ser, por ejemplo, oral, parenteral, por inhalación o tópica. El término parenteral tal como se usa en el presente documento incluye, por ejemplo, administración intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea, rectal o vaginal. Si bien todas estas formas de administración se contemplan claramente como situadas dentro del alcance de la descripción, una forma de administración sería una solución para inyección, en particular para inyección intravenosa o intraarterial o goteo. Por lo general, una composición farmacéutica adecuada para inyección puede comprender un tampón (por ejemplo, tampón de acetato, fosfato o citrato), un tensioactivo (por ejemplo, polisorbato), opcionalmente un agente estabilizador (por ejemplo, albúmina humana), etc. Sin embargo, en otros procedimientos compatibles con las enseñanzas del presente documento, los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden suministrarse directamente en el sitio de la población celular adversa incrementando así la exposición del tejido enfermo al agente terapéutico.
- 10
- 15
- 20 Tal como se expone anteriormente, los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden administrarse en una cantidad farmacéuticamente efectiva para el tratamiento *in vivo* de una lesión de la médula espinal de un mamífero, enfermedades o trastornos asociados con la inhibición del crecimiento neuronal en el SNC, enfermedades o trastornos asociados con la inhibición del crecimiento o diferenciación de oligodendrocitos y enfermedades que implican desmielinización o dismielinización del SNC. A este respecto, se observará que los anticuerpos descritos se formularán de manera que se facilite la administración y se promueva la estabilidad del agente activo. Preferentemente, las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente descripción comprenden un vehículo estéril no tóxico farmacéuticamente aceptable tal como suero salino fisiológico, tampones no tóxicos, conservantes y similares. Para los fines de la presente solicitud, una cantidad farmacéuticamente efectiva de un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo, conjugado o no conjugado, será tal que se mantenga en una cantidad suficiente para alcanzar una unión efectiva a una diana y para conseguir un beneficio, por ejemplo, para mejorar los síntomas de una enfermedad o trastorno o para detectar una sustancia o una célula.
- 25
- 30

Las composiciones farmacéuticas usadas en la presente descripción comprenden vehículos farmacéuticamente aceptables, que incluyen, por ejemplo, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas, tales como albúmina sérica humana, sustancias tampón tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, hidrogenofosfato de disodio, hidrogenofosfato de potasio, cloruro de sodio, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias a base de celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa sódica, poliácridatos, ceras, polímeros de bloque polietileno-polioxiopropileno, polietilenglicol y grasa de lana.

35

40

Entre las preparaciones para la administración parenteral se incluyen soluciones estériles acuosas y no acuosas, suspensiones y emulsiones. Algunos ejemplos de disolventes no acuosos son propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. Entre los vehículos acuosos se incluyen agua, soluciones alcohólicas/acuosas, emulsiones o suspensiones, que incluyen solución salina y media tamponado. En la descripción objeto, los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, tampón de fosfato 0,01-0,1 M y preferentemente 0,05 M o solución salina al 0,8 %. Otros vehículos parenterales comunes incluyen soluciones de fosfato de sodio, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro de sodio, Ringer de lactato o aceites fijados. Los vehículos intravenosos incluyen reponedores de líquidos y nutrientes, reponedores de electrolitos, tales como aquellos basados en dextrosa de Ringer, y similares. También pueden estar presentes conservantes y otros aditivos tales como, por ejemplo, antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes y gases inertes y similares.

45

50

Más en particular, entre las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable se incluyen soluciones acuosas estériles (cuando son solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación improvisada de soluciones o dispersiones inyectables estériles. En estos casos, la composición debe ser estéril y ha de ser fluida para que sea fácil de utilizar en jeringas. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y se preservará preferentemente frente a la acción contaminante de los microorganismos, tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o un medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por

55

60

ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, con el uso de un recubrimiento tal como lecitina, por el mantenimiento de un tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y por el uso de tensioactivos. Las formulaciones adecuadas para el uso en los procedimientos terapéuticos descritos en el presente documento se describen en
 5 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., 16ª ed. (1980).

La prevención de la acción de los microorganismos puede conseguirse con varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes, tales como manitol, sorbitol o cloruro
 10 de sodio en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede conseguirse incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

En cualquier caso, las soluciones inyectables estériles pueden prepararse incorporando un compuesto activo (por
 15 ejemplo, un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo, solo o en combinación con otros agentes activos) en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes enumerados en el presente documento, según sea necesario, seguido por esterilización filtrada. En general, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril, que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de entre los enumerados
 20 anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los procedimientos de preparación preferentes son secado al vacío y liofilización, que produce un polvo de un ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una solución estéril previamente filtrada del mismo. Las preparaciones para inyecciones son procesadas, se vierten en recipientes tales como ampollas, bolsas, frascos, jeringas o viales, y se sellan herméticamente en condiciones asépticas de acuerdo con
 25 procedimientos conocidos en la técnica. Además, las preparaciones pueden envasarse y comercializarse en forma de un kit tal como los descritos en el documento en tramitación U.S.S.N. 09/259.337 (US-2002-0102208 A1). Dichos artículos de fabricación tendrán preferentemente etiquetas o prospectos en el envase que indiquen que las composiciones asociadas son útiles para tratar a un sujeto que sufre o tiene predisposición a trastornos autoinmunitarios o neoplásicos.

30 Las formulaciones parenterales pueden ser una dosis en bolo único, una infusión o una dosis de bolo de carga seguida por una dosis de mantenimiento. Estas composiciones pueden administrarse en intervalos fijos o variables específicos, por ejemplo, una vez al día, o según "se necesite".

35 Algunas composiciones farmacéuticas usadas en la presente descripción pueden administrarse por vía oral en una forma de dosificación aceptable que incluye, por ejemplo, cápsulas, comprimidos, suspensiones o soluciones acuosas. Algunas composiciones farmacéuticas pueden administrarse también por aerosol nasal o inhalación. Dichas composiciones pueden prepararse como soluciones en suero salino, que emplean alcohol bencílico u otros conservantes, promotores de absorción para potenciar la biodisponibilidad y/u otros agentes convencionales de
 40 solubilización o dispersión adecuados.

La cantidad de un anticuerpo Sp35, o fragmento, variante o derivado del mismo que puede combinarse con los materiales de vehículo para producir una única forma de dosificación variará dependiendo del hospedador tratado y del modo de administración en particular. La composición puede administrarse como una dosis única, en dosis
 45 múltiples o durante un periodo de tiempo establecido en una infusión. También pueden ajustarse las pautas posológicas para proporcionar la respuesta óptima deseada (por ejemplo, una respuesta terapéutica o profiláctica).

Los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos pueden administrarse a un ser humano u otro animal de acuerdo con los procedimientos de tratamiento mencionados
 50 anteriormente en una cantidad suficiente para producir un efecto terapéutico. Los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos pueden administrarse a dicho ser humano u otro animal en una forma de dosificación convencional preparada combinando el anticuerpo con un vehículo farmacéuticamente aceptable convencional o un diluyente de acuerdo con técnicas conocidas. Un experto en la materia reconocerá que la forma y el carácter del vehículo farmacéuticamente aceptable o diluyente están dictados por la cantidad de
 55 ingrediente activo con la que se va a combinar, la vía de administración y otras variables bien conocidas. Los expertos en la materia apreciarán además que un cóctel que comprenda una o más especies de anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos puede demostrar ser particularmente efectivo.

60 Las dosis efectivas de las composiciones de la presente descripción, para el tratamiento de una lesión de la médula

- espinal, enfermedades o trastornos asociados con la inhibición del crecimiento neuronal en el SNC, enfermedades o trastornos asociados con la inhibición del crecimiento o diferenciación de oligodendrocitos y enfermedades que implican desmielinización o dismielinización del SNC variarán dependiendo de muchos factores diferentes, que incluyen medios de administración, sitio diana, estado fisiológico del paciente, si el paciente es un ser humano o un animal, otras medicaciones administradas, y si el tratamiento es profiláctico o terapéutico. Por lo general, el paciente es un ser humano, aunque puede tratarse también a mamíferos no humanos incluidos mamíferos transgénicos. Las dosificaciones de tratamiento pueden valorarse usando procedimientos rutinarios conocidos por los expertos en la materia para optimizar la seguridad y la eficacia.
- 5
- 10 Para el tratamiento de una lesión de la médula espinal, enfermedades o trastornos asociados con la inhibición del crecimiento neuronal en el SNC, enfermedades o trastornos asociados con la inhibición del crecimiento o diferenciación de oligodendrocitos, y enfermedades que implican desmielinización o dismielinización del SNC con un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo, la dosificación puede ser, por ejemplo, de aproximadamente 0,0001 a 100 mg/kg, y más por lo general 0,01 a 5 mg/kg (por ejemplo, 0,02 mg/kg,
- 15 0,25 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,75 mg/kg, 1 mg/kg, 2 mg/kg, etc.), del peso corporal del hospedador. Por ejemplo, las dosificaciones pueden ser de 1 mg/kg de peso corporal o 10 mg/kg de peso corporal o estar en el intervalo de 1-10 mg/kg, preferentemente al menos 1 mg/kg. Las dosis intermedias en los intervalos anteriores también pretenden estar dentro del alcance de la descripción. A los sujetos pueden administrárseles dichas dosis de forma diaria, en días alternos, semanalmente o de acuerdo con cualquier otro calendario determinado por análisis empírico. Un
- 20 tratamiento de ejemplo comprende la administración en múltiples dosis durante un periodo prolongado, por ejemplo, de al menos seis meses. Los regímenes de tratamiento adicionales comprenden la administración una vez cada dos semanas o una vez al mes o una vez cada 3 a 6 meses. Los calendarios de dosificación de ejemplo incluyen 1-10 mg/kg o 15 mg/kg en días consecutivos, 30 mg/kg en días alternos o 60 mg/kg cada semana. En algunos procedimientos, se administran dos o más anticuerpos monoclonales con diferentes especificidades de unión de
- 25 forma simultánea, en cuyo caso la dosificación de cada anticuerpo administrado se encuentra dentro de los intervalos indicados.

- Los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden administrarse en múltiples ocasiones. Los intervalos entre dosificaciones individuales pueden ser diarios,
- 30 semanales, mensuales o anuales. Los intervalos también pueden ser irregulares según lo indique la medida de los niveles en sangre de polipéptido diana o molécula diana en el paciente. En algunos procedimientos, la dosificación se ajusta para conseguir una concentración de polipéptidos en plasma de 1-1.000 µg/ml y en algunos procedimientos 25-300 µg/ml. Alternativamente, los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden administrarse en una formulación de liberación sostenida, en
- 35 cuyo caso se requiere una administración menos frecuente. La dosificación y la frecuencia varían dependiendo de la semivida del anticuerpo en el paciente. La semivida de un anticuerpo Sp35 puede prolongarse también por medio de la fusión con un polipéptido o fracción estable, por ejemplo, albúmina o PEG. En general, los anticuerpos humanizados muestran la semivida más larga, seguidos por los anticuerpos quiméricos y anticuerpos no humanos. En un caso, los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la
- 40 descripción pueden administrarse en forma no conjugada. En otro caso, los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden administrarse múltiples veces en forma conjugada. En otro caso más, los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden administrarse en forma no conjugada, y después en forma conjugada, o a la inversa.

- 45 Las composiciones de la presente descripción pueden administrarse mediante cualquier procedimiento adecuado, por ejemplo, por vía parenteral, intraventricular, oral, por inhalación en nebulizador, tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o por medio de un reservorio implantado. El término "parenteral" tal como se usa en el presente documento incluye técnicas de infusión o inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial,
- 50 intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal. Tal como se ha descrito anteriormente, los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos actúan sobre el sistema nervioso para promover la supervivencia, proliferación y diferenciación de oligodendrocitos y la mielinización de neuronas y la supervivencia neuronal, regeneración de axones y orientación de axones. Por consiguiente, en los procedimientos de la descripción, los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos se administran de forma que atraviesan la barrera hematoencefálica. Este cruce puede proceder de las
- 55 propiedades fisicoquímicas inherentes en la molécula del anticuerpo Sp35 en sí, de otros componentes en una formulación farmacéutica o del uso de un dispositivo mecánico tal como una aguja, cánula o instrumentos quirúrgicos para superar la barrera hematoencefálica. Cuando el anticuerpo Sp35 es una molécula que no cruza intrínsecamente la barrera hematoencefálica, por ejemplo, una fusión con una fracción que facilita el cruce, las vías
- 60 de administración adecuadas son, por ejemplo, intratecal o intracraneal, por ejemplo, directamente en una lesión

crónica de EM. Cuando el anticuerpo Sp35 es una molécula que cruza intrínsecamente la barrera hematoencefálica, la vía de administración puede ser por una o más de las diversas vías descritas más adelante. En algunos procedimientos, los anticuerpos se administran en una composición o dispositivo de liberación sostenida, tales como un dispositivo Medipad™. El suministro a través de la barrera hematoencefálica puede mejorarse si lleva una molécula, tal como un receptor anti-Fc, transferrina, receptor anti-insulina o un conjugado de toxinas o un potenciador de penetración.

Los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos usados en los procedimientos de la descripción pueden infundirse directamente en el encéfalo. Se conocen varios implantes para la infusión directa en el encéfalo de compuestos y son efectivos en el suministro de compuestos terapéuticos en pacientes humanos que sufren trastornos neurológicos. Entre ellos se incluyen infusión crónica en el encéfalo usando una bomba, catéteres intersticiales temporales implantados por vía estereotáctica, implantes de catéteres intracraneales permanentes e implantes biodegradables de implantación quirúrgica. Véase, por ejemplo, Gill *et al.*, "Direct brain infusion of glial celular line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease", *Nature Med.* 9: 589-95 (2003); Scharfen *et al.*, "High Activity Iodine-125 Interstitial Implant For Gliomas", *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 24(4):583-91 (1992); Gaspar *et al.*, "Permanent ¹²⁵I Implants for Recurrent Malignant Gliomas", *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 43(5):977-82 (1999); capítulo 66, páginas 577-580, Bellezza *et al.*, "Stereotactic Interstitial Brachytherapy", en Gildenberg *et al.*, *Textbook of Stereotactic and Functional Neurosurgery*, McGraw-Hill (1998); y Brem *et al.*, "The Safety of Interstitial Chemotherapy with BCNU-Loaded Polymer Followed by Radiation Therapy in the Treatment of Newly Diagnosed Malignant Gliomas: Phase I Trial", *J. Neuro-Oncology* 26:111-23 (1995).

Las composiciones pueden comprender también un anticuerpo Sp35 dispersado en un material de vehículo biocompatible que funciona como un sistema de soporte o suministro adecuado para los compuestos. Entre los ejemplos adecuados de vehículos de liberación sostenida se incluyen matrices poliméricas semipermeables en forma de artículos conformados tales como supositorios o cápsulas. Entre las matrices de liberación sostenida implantables o microcapsulares se incluyen polilactidas (patente de EE. UU. nº 3.773.319; documento EP 58.481), copolímeros de ácido L-glutámico y gamma-etil-L-glutamato (Sidman *et al.*, *Biopolymers* 22:547-56 (1985)); poli(2-hidroxietil-metacrilato), acetato de etilenvinilo (Langer *et al.*, *J. Biomed. Mater. Res.* 15:167-277 (1981); Langer, *Chem. Tech.* 12:98-105 (1982)) o ácido poli-D(-)-3-hidroxi-butírico (documento EP 133.988).

En algunos casos de la descripción, un anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo de la descripción se administra a un paciente por infusión directa en una región apropiada del encéfalo. Véase, por ejemplo, Gill *et al.*, más arriba. Se dispone de técnicas alternativas y pueden aplicarse para administrar un anticuerpo Sp35 de acuerdo con la descripción. Por ejemplo, la colocación estereotáctica de un catéter o implante puede conseguirse usando la unidad de Riechert-Mundinger y la unidad de localización multiuso ZD (Zamorano-Dujovny). Un estudio de tomografía computarizada (TC) con realce de contraste, que inyecta 120 ml de omnipaque, 350 mg de yodo/ml, con grosor de corte de 2 mm puede permitir una planificación del tratamiento tridimensional en planos múltiples (STP, Fischer, Friburgo, Alemania). Este equipo permite la planificación basándose en estudios de imagen de resonancia magnética, combinando la información objeto de TC y RM para una confirmación objeto clara.

Para este fin pueden usarse el sistema estereotático de Leksell (Downs Surgical, Inc., Decatur, GA) modificado para el uso con un escáner TC GE (General Electric Company, Milwaukee, WI) así como el sistema estereotático de Brown-Roberts-Wells (BRW) (Radionics, Burlington, MA). Así, en la mañana del implante, el anillo de base anular del marco estereotático BRW puede fijarse al cráneo del paciente. Pueden obtenerse secciones de TC en serie en intervalos de 3 mm a través de la región (tejido diana) con un marco localizador de barra de grafito sujeto a la placa base. Puede ejecutarse un programa de planificación de tratamiento computarizado en un ordenador VAX 11/780 (Digital Equipment Corporation, Maynard, Mass.) usando coordenadas TC de las imágenes de la barra de grafito para cartografiar las posiciones entre el espacio TC y el espacio BRW.

Los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden administrarse opcionalmente en combinación con otros agentes que son efectivos en el tratamiento del trastorno o afección que necesita el tratamiento (por ejemplo, profilácticos o terapéuticos).

55 X. DIAGNÓSTICO

La descripción proporciona además un procedimiento diagnóstico útil durante el diagnóstico de trastornos o lesiones neuronales, que implica la medida del nivel de expresión de la proteína o transcripción Sp35 en tejido u otras células o fluidos corporales de un individuo y la comparación del nivel de expresión medido con niveles de expresión de

Sp35 estándar en tejido o fluido corporal normal, con lo que un aumento en el nivel de expresión en comparación con el estándar es indicativo de un trastorno.

5 Los anticuerpos específicos Sp35 pueden usarse para someter a ensayo los niveles de proteínas en una muestra biológica usando procedimientos inmunohistológicos clásicos conocidos por los expertos en la materia (por ejemplo, véase Jalkanen, *et al.*, *J. Cell. Biol.* 101:976-985 (1985); Jalkanen, *et al.*, *J. Cell Biol.* 105:3087-3096 (1987)). Otros procedimientos basados en anticuerpos útiles para detectar la expresión de proteínas incluyen inmunoensayos, tales como el ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA), inmunoprecipitación o Western blot. Los ensayos adecuados se describen en mayor detalle en otra parte en el presente documento.

10 Por "ensayo del nivel de expresión de polipéptido Sp35" se entiende la medida o estimación cualitativa o cuantitativa del nivel de polipéptido Sp35 en una primera muestra biológica ya sea directamente (por ejemplo, determinando o estimando el nivel absoluto de proteínas) o relativamente (por ejemplo, comparando con el nivel de polipéptidos asociado al cáncer en una segunda muestra biológica). Preferentemente, se mide o estima el nivel de expresión del
15 polipéptido Sp35 en la primera muestra biológica y se compara con un nivel de polipéptido Sp35 estándar, tomándose el estándar de una segunda muestra biológica obtenida de un individuo que no tiene el trastorno o determinándose mediante promediado de los niveles a partir de una población de individuos que no tienen el trastorno. Como se apreciará en la técnica, una vez que se conoce el nivel "estándar" del polipéptido Sp35, puede usarse repetidamente como estándar de comparación.

20 Por "muestra biológica" se entiende cualquier muestra biológica obtenida de un individuo, línea celular, cultivo tisular u otra fuente de células que expresan potencialmente Sp35. Los procedimientos para obtener biopsias de tejidos y fluidos corporales de mamíferos son bien conocidas en la técnica.

25 Los anticuerpos Sp35 para el uso en los procedimientos diagnósticos descritos anteriormente incluyen cualquier anticuerpo Sp35 que se une específicamente a un producto génico Sp35, tal como se describe en otra parte en el presente documento.

XI. INMUNOENSAYOS

30 Los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden someterse a ensayo sobre unión inmuno-específica por cualquier procedimiento conocido en la técnica. Entre los inmunoensayos que pueden usarse se incluyen pero no se limitan a sistemas de ensayo competitivos y no competitivos que usan técnicas tales como Western blot, radioinmunoensayos, ELISA (ensayo de inmunoadsorción
35 ligado a enzimas), inmunoensayos "sándwich", ensayos de inmunoprecipitación, reacciones de precipitina, reacciones de precipitina de difusión en gel, ensayos de inmunodifusión, ensayos de aglutinación, ensayos de fijación de complemento, ensayos inmunoradiométricos, inmunoensayos fluorescentes, inmunoensayos de proteína A, entre otros. Dichos ensayos son rutinarios y bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Ausubel *et al.*, eds, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, Vol. 1 (1994)). A continuación, se describen brevemente inmunoensayos de ejemplo (pero no se pretende que sean limitantes).

Los protocolos de inmunoprecipitación comprenden generalmente el lisado de una población de células en un tampón de lisis tal como tampón RIPA (NP-40 o Triton X-100 al 1 %, desoxicolato de sodio al 1 %, SDS al 0,1 %, NaCl 0,15 M, fosfato de sodio 0,01 M a pH 7,2, Trasylol al 1 %) suplementado con proteína fosfatasa y/o inhibidores
45 de proteasa (por ejemplo, EDTA, PMSF, aprotinina, vanadato de sodio), la adición del anticuerpo de interés al lisado celular, la incubación durante un periodo de tiempo (por ejemplo, 1-4 horas) a 4 °C, la adición de perlas de sefarosa de proteína A y/o proteína G al lisado celular, la incubación durante aproximadamente una hora o más a 4 °C, el lavado de las perlas en tampón de lisis y la resuspensión de las perlas en SDS/tampón de muestra. La capacidad del anticuerpo de interés para la inmunoprecipitación de un antígeno en particular puede evaluarse, por ejemplo, por
50 análisis por Western blot. Un experto en la materia conocerá los parámetros que pueden modificarse para aumentar la unión del anticuerpo a un antígeno y reducir el sustrato (por ejemplo, aclarado previo del lisado celular con perlas de sefarosa). Para un estudio adicional sobre los protocolos de inmunoprecipitación véase, por ejemplo, Ausubel *et al.*, eds, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, Vol. 1 (1994) en 10.16.1.

55 El análisis por Western comprende generalmente la preparación de muestras de proteínas, la electroforesis de las muestras de proteínas en un gel de poliacrilamida (por ejemplo, SDS-PAGE al 8 %-20 % dependiendo del peso molecular del antígeno), la transferencia de la muestra de proteínas desde el gel de poliacrilamida a una membrana tal como nitrocelulosa, PVDF o nailon, el bloqueo de la membrana en solución de bloqueo (por ejemplo, PBS con BSA al 3 % o leche desnatada), el lavado de la membrana en tampón de lavado (por ejemplo, PBS-Tween 20), el
60 bloqueo de la membrana con anticuerpo primario (el anticuerpo de interés) diluido en tampón de bloqueo, el lavado

de la membrana en tampón de lavado, el bloqueo de la membrana con un anticuerpo secundario (que reconoce el anticuerpo primario, por ejemplo, un anticuerpo antihumano) conjugado con un sustrato enzimático (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante o fosfatasa alcalina) o molécula radiactiva (por ejemplo, 32p o 1251) diluido en tampón de bloqueo, el lavado de la membrana en tampón de lavado y la detección de la presencia del antígeno. Un experto en la materia conocerá los parámetros que pueden modificarse para aumentar la señal detectada y reducir el ruido de fondo. Para una exposición más detallada sobre los protocolos de Western véase, por ejemplo, Ausubel *et al.*, eds, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York Vol. 1 (1994) en 10.8.1.

Los procedimientos ELISA comprenden la preparación del antígeno, el recubrimiento del pocillo de una placa de microtitulación de 96 pocillos con el antígeno, la adición del anticuerpo de interés conjugado con un compuesto detectable tal como un sustrato enzimático (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante o fosfatasa alcalina) al pocillo y la incubación durante un periodo de tiempo, y la detección de la presencia del antígeno. En los procedimientos ELISA el anticuerpo de interés no tiene que conjugarse con un compuesto detectable; en su lugar, puede añadirse al pocillo un segundo anticuerpo (que reconoce el anticuerpo de interés) conjugado con un compuesto detectable. Además, en lugar de recubrir el pocillo con el antígeno, el anticuerpo puede recubrirse en el pocillo. En este caso, puede añadirse un segundo anticuerpo conjugado con un compuesto detectable después de la adición del antígeno de interés al pocillo recubierto. Un experto en la materia conocerá los parámetros que pueden modificarse para aumentar la señal detectada, así como otras variaciones de ELISA conocidas en la técnica. Para una exposición más en detalle en relación con las técnicas ELISA véase, por ejemplo, Ausubel *et al.*, eds, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, Vol. 1 (1994) en 11.2.1.

La afinidad de unión de un anticuerpo a un antígeno y la tasa de reacción de disociación de una interacción anticuerpo-antígeno pueden determinarse por ensayos de unión competitiva. Un ejemplo de un ensayo de unión competitiva es un radioinmunoensayo que comprende la incubación de antígeno marcado (por ejemplo, ³H o ¹²⁵I) con el anticuerpo de interés en presencia de cantidades crecientes de antígeno no marcado, y la detección del anticuerpo unido al antígeno marcado. La afinidad del anticuerpo de interés por un antígeno en particular y las tasas de reacción de disociación de unión pueden determinarse a partir de los datos por análisis de representación de Scatchard. La competición con un segundo anticuerpo puede determinarse también usando radioinmunoensayos. En este caso, el antígeno incubado con el anticuerpo de interés se conjuga con un compuesto marcado (por ejemplo, ³H o ¹²⁵I) en presencia de cantidades crecientes de un segundo anticuerpo no marcado.

Los anticuerpos Sp35, o fragmentos de unión a antígenos, variantes o derivados de los mismos de la descripción pueden emplearse además histológicamente, por ejemplo, en inmunofluorescencia, microscopia de inmunoelectrones o ensayos no inmunológicos, para la detección *in situ* de productos génicos de antígenos del cáncer o variantes conservadas o fragmentos peptídicos de los mismos. La detección *in situ* puede conseguirse extrayendo una muestra histológica de un paciente, y aplicándole al mismo un anticuerpo Sp35 marcado, o un fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo, aplicado preferentemente por superposición del anticuerpo (o fragmento) marcado en una muestra biológica. A través del uso de dicho procedimiento, es posible determinar no solo la presencia de proteína Sp35, o variantes conservadas o fragmentos peptídicos, sino también su distribución en el tejido examinado. Usando la presente descripción, los expertos en la materia percibirán fácilmente que puede modificarse cualquiera de una amplia variedad de procedimientos histológicos (tales como procedimientos de tinción) para conseguir dicha detección *in situ*.

Los inmunoensayos y no inmunoensayos para productos génicos Sp35 o variantes conservadas o fragmentos peptídicos de los mismos comprenderán normalmente la incubación de una muestra, tal como un fluido biológico, un extracto de tejido, células recién recogidas o lisados de células que se han incubado en cultivo celular, en presencia de un anticuerpo marcado de forma detectable capaz de unión a Sp35 o variantes conservadas o fragmentos peptídicos del mismo, y la detección del anticuerpo ligado por cualquiera de una serie de técnicas bien conocidas en la técnica.

La muestra biológica puede ponerse en contacto e inmovilizarse en un soporte o vehículo de fase sólida tal como nitrocelulosa, u otro soporte sólido que sea capaz de inmovilizar células, partículas celulares o proteínas solubles. El soporte puede lavarse a continuación con tampones adecuados por tratamiento con el anticuerpo Sp35 marcado de forma detectable, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo. A continuación, el soporte de fase sólida puede lavarse con el tampón una segunda vez para eliminar el anticuerpo no ligado. Opcionalmente el anticuerpo es marcado posteriormente. La cantidad de etiqueta unida en el soporte sólido puede detectarse a continuación por medios convencionales.

Por "soporte o vehículo de fase sólida" se entiende cualquier soporte capaz de unirse a un antígeno o un anticuerpo. Entre los soportes o vehículos bien conocidos se incluyen vidrio, poliestireno, polipropileno, polietileno, dextrano,

naillon, amilasas, celulosas naturales y modificadas, poliacrilamidas, gabros y magnetita. La naturaleza del vehículo puede ser soluble en cierta medida o insoluble para los fines de la presente descripción. El material de soporte puede tener prácticamente cualquier configuración estructural posible en la medida en que la molécula acoplada sea capaz de unirse a un antígeno o anticuerpo. Así, la configuración del soporte puede ser esférica, como en una perla, o cilíndrica, como en la superficie interior de un tubo de ensayo, o la superficie exterior de una varilla. Alternativamente, la superficie puede ser plana tal como una lámina, una tira de prueba, etc. Los soportes preferentes incluyen perlas de poliestireno. Los expertos en la materia conocerán otros muchos vehículos adecuados para unión a anticuerpo o antígeno, o serán capaces de elucidar los mismos mediante el uso de experimentación rutinaria.

10

La actividad de unión de un lote dado de anticuerpo Sp35, o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo puede determinarse de acuerdo con procedimientos bien conocidos. Los expertos en la materia serán capaces de determinar las condiciones de ensayo operativas y óptimas para cada determinación empleando experimentación rutinaria.

15

Existen diversos procedimientos disponibles para medir la afinidad de una interacción anticuerpo-antígeno, aunque relativamente pocos para determinar las constantes de velocidad. La mayoría de los procedimientos se basan en el marcado de anticuerpo o antígeno, lo que complica inevitablemente las medidas de rutina e introduce incertidumbres en las cantidades medidas.

20

La resonancia por plasmones de superficie (SPR) tal como se realiza en BIAcore ofrece diversas ventajas sobre los procedimientos convencionales de medición de la afinidad de las interacciones anticuerpo-antígeno: (i) no se requiere marcar el anticuerpo o antígeno; (ii) no es preciso purificar los anticuerpos con antelación, el sobrenadante de cultivo celular puede usarse directamente; (iii) se permiten medidas en tiempo real, que permiten una rápida comparación semicuantitativa de diferentes interacciones de anticuerpos monoclonales, y son suficientes para muchos fines de evaluación; (iv) puede regenerarse la superficie bioespecífica de manera que pueda compararse fácilmente una serie de diferentes anticuerpos monoclonales en condiciones idénticas; (v) los procedimientos analíticos están totalmente automatizados y pueden realizarse series extensas de medidas sin intervención del usuario. BIAApplications Handbook, versión AB (reimpreso en 1998), nº código BIACORE BR-1001-86; BIAtechnology Handbook, versión AB (reimpreso en 1998), nº código BIACORE BR-1001-84.

30

Los estudios de unión basados en SPR requieren que un miembro de un par de unión se inmovilice en la superficie de un sensor. La pareja de la unión inmovilizada se refiere como el ligando. La pareja de la unión en solución se refiere como el analito. En algunos casos, el ligando se une indirectamente a la superficie a través de la unión a otra molécula inmovilizada, que se refiere como la molécula de captura. La respuesta de SPR refleja el cambio en la concentración de masa en la superficie del detector cuando los analitos se unen o se disocian.

35

Basándose en SPR, las medidas de BIAcore en tiempo real monitorizan las interacciones directamente cuando suceden. La técnica está bien adaptada para la determinación de parámetros cinéticos. La clasificación de la afinidad comparativa es extremadamente sencilla de realizar, y tanto las constantes cinéticas como de afinidad pueden obtenerse de datos del sensorgrama.

40

Cuando se inyecta analito en un pulso discreto a lo largo de una superficie de ligando, el sensorgrama resultante puede dividirse en tres fases esenciales: (i) asociación de analito con ligando durante la inyección de la muestra; (ii) estado de equilibrio o estacionario durante la inyección de muestra, donde la tasa de unión a analito se compensa con la disociación desde el complejo; (iii) disociación de analito desde la superficie durante el flujo de tampón.

45

Las fases de asociación y disociación proporcionan información sobre la cinética de la interacción analito-ligando (k_a y k_d , las tasas de formación y disociación de complejo, $k_d/k_a = K_D$). La fase de equilibrio proporciona información sobre la afinidad de la interacción analito-ligando (K_D).

50

El software BIAevaluation proporciona instalaciones extensas para el ajuste de la curva usando algoritmos de ajuste de integración y globales. Con un análisis adecuado de los datos, pueden obtenerse tasa y las constantes de afinidad separadas para la interacción a partir de investigaciones con BIAcore sencillas. El intervalo de afinidades mensurable por esta técnica es muy amplio y está comprendido entre mM y pM.

55

La especificidad de epítomos es una característica importante de un anticuerpo monoclonal. La cartografía de epítomos con BIAcore, a diferencia de las técnicas convencionales que usan radioinmunoensayo, ELISA u otros procedimientos de adsorción superficial, no requiere marcado o anticuerpos purificados, y permite pruebas de especificidad multisitio que usan una secuencia de varios anticuerpos monoclonales. Además, pueden procesarse

60

grandes números de análisis automáticamente.

Los experimentos de unión por pares prueban la capacidad de dos AMc para unirse simultáneamente al mismo antígeno. Los AMc dirigidos contra epítomos separados se unirán de forma independiente, mientras que los AMc dirigidos contra epítomos idénticos o estrechamente relacionados interferirán con la unión de cada uno de los otros. Estos experimentos de unión con BIAcore son sencillos de realizar.

Por ejemplo, se puede usar una molécula de captura para unirse al primer AMc, seguido por la adición de antígeno y el segundo AMc secuencialmente. Los sensorgramas revelarán: 1. cuánto antígeno se une al primer AMc, 2. en qué medida el segundo AMc se une al antígeno unido a la superficie, 3. si el segundo AMc no se une, si al invertir el orden de la prueba por pares se alteran los resultados.

La inhibición de péptidos es otra técnica usada para cartografía de epítomos. Este procedimiento puede complementar los estudios de unión a anticuerpos por pares, y puede relacionar los epítomos funcionales con las características estructurales cuando se conoce la secuencia primaria del antígeno. Los péptidos o fragmentos de antígenos se someten a prueba en lo relativo a la inhibición de la unión de diferentes AMc a antígeno inmovilizado. Se supone que los péptidos que interfieren con la unión de un AMc dado están relacionados estructuralmente con el epítomo definido por ese AMc.

La práctica de la presente descripción empleará, salvo que se indique lo contrario, técnicas convencionales de biología celular, cultivo celular, biología molecular, biología transgénica, microbiología, ADN recombinante e inmunología, que están dentro de las capacidades de la técnica. Dichas técnicas se explican de forma completa en la bibliografía. Véase, por ejemplo, *Molecular Cloning A Laboratory Manual*, 2ª ed., Sambrook *et al.*, ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press: (1989); *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Sambrook *et al.*, ed., Cold Springs Harbor Laboratory, Nueva York (1992), *ADN Cloning*, D. N. Glover ed., Volumes I y II (1985); *Oligonucleotide Synthesis*, M. J. Gait ed., (1984); Mullis *et al.* patente de EE. UU. nº 4.683.195; *Nucleic Acid Hybridization*, B. D. Hames & S. J. Higgins eds. (1984); *Transcription And Translation*, B. D. Hames & S. J. Higgins eds. (1984); *Culture Of Animal Cells*, R. I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., (1987); *Immobilized Cells And Enzymes*, IRL Press, (1986); B. Perbal, *A Practical Guide To Molecular Cloning* (1984); el tratado *Methods in Enzymology*, Academic Press, Inc., N.S.; *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells*, J. H. Miller y M. P. Calos eds., Cold Spring Harbor Laboratory (1987); *Methods in Enzymology*, Vols. 154 y 155 (Wu *et al.* eds.); *Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology*, Mayer y Walker, eds., Academic Press, London (1987); *Handbook Of Experimental Immunology*, Volumes I-IV, D. M. Weir y C. C. Blackwell, eds., (1986); *Manipulating the Mouse Embryo*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.S., (1986); y en Ausubel *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley and Sons, Baltimore, Maryland (1989).

Los principios generales de diseño de anticuerpos se exponen en *Antibody Engineering*, 2ª edición, C.A.K. Borrebaeck, Ed., Oxford Univ. Press (1995). Los principios generales del diseño de proteínas se exponen en *Protein Engineering, A Practical Approach*, Rickwood, D., *et al.*, Eds., IRL Press at Oxford Univ. Press, Oxford, Eng. (1995). Los principios generales de anticuerpos y unión de anticuerpo-hapteno se exponen en: Nisonoff, A., *Molecular Immunology*, 2ª ed., Sinauer Associates, Sunderland, MA (1984); y Steward, M.W., *Antibodies, Their Structure and Function*, Chapman y Hall, Nueva York, NY (1984). Además, los procedimientos estándar en inmunología conocidos en la técnica y no descritos específicamente se siguen generalmente como en *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons, Nueva York; Stites *et al.* (eds), *Basic and Clinical Immunology* (8ª ed.), Appleton & Lange, Norwalk, CT (1994) y Mishell y Shiigi (eds), *Selected Methods in Cellular Immunology*, W.H. Freeman y Co., Nueva York (1980).

Entre los trabajos de referencia estándar que exponen los principios generales de la inmunología se incluyen *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons, Nueva York; Klein, J., *Immunology: The Science of Self-Nonself Discrimination*, John Wiley & Sons, Nueva York (1982); Kennett, R., *et al.*, eds., *Monoclonal Antibodies, Hybridoma: A New Dimension in Biological Analyses*, Plenum Press, Nueva York (1980); Campbell, A., "Monoclonal Antibody Technology" en Burden, R., *et al.*, eds., *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 13, Elsevier, Amsterdam (1984), Kuby *Immunology* 4ª ed. Ed. Richard A. Goldsby, Thomas J. Kindt y Barbara A. Osborne, H. Freeman & Co. (2000); Roitt, I., Brostoff, J. y Male D., *Immunology* 6ª ed. London: Mosby (2001); Abbas A., Abul, A. y Lichtman, A., *Cellular and Molecular Immunology*, Ed. 5, Elsevier Health Sciences Division (2005); Kontermann y Dubel, *Antibody Engineering*, Springer Verlag (2001); Sambrook y Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Press (2001); Lewin, Genes VIII, Prentice Hall (2003); Harlow y Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press (1988); Dieffenbach y Dveksler, *PCR Primer* Cold Spring Harbor Press (2003).

60

EJEMPLOS

EJEMPLO 1

5 Sp35 está implicado en la biología de los oligodendrocitos

Los oligodendrocitos maduran a través de varias fases de desarrollo desde células progenitoras A2B5 (que expresan A2B5), diferenciación en oligodendrocitos premielinizantes (que expresan O1 y O4) y finalmente en oligodendrocitos mielinizantes maduros (que expresan O1, O4 y MBP). Así, vigilando la presencia y la ausencia de los marcadores

10 A2B5, O1, O4 y MBP es posible determinar la fase de desarrollo de una célula dada y evaluar el papel de Sp35-Fc en la biología de los oligodendrocitos. Para una revisión general de la biología de los oligodendrocitos, véase, por ejemplo, Baumann y Pham-Dinh, *Physiol. Rev.* 81: 871-927 (2001).

Los anticuerpos monoclonales contra O4, MBP y CNPasa se obtuvieron de Sternberger Monoclonals; el anticuerpo

15 para APC (clon CC-1; ref. 29) se obtuvo de Calbiochem. Otros anticuerpos fueron para tubulina β III (Covance), Sp35 (Biogen Idec), Fyn (Santa Cruz Biotechnology) y fosfo-Fyn (Biosource). Los anticuerpos monoclonales contra A2B5 están disponibles en Chemicon.

Sp35 se expresa en oligodendrocitos

20

Se analizó la expresión de Sp35 en cultivos de neuronas P13 CG, oligodendrocitos P2 y astrocitos P4 de rata por reacción en cadena de la polimerasa después de transcripción inversa (RT-PCR). Se usó un kit de Ambion, Inc. Para extraer ARNm de las células de encéfalo de rata de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se llevó a cabo RT-PCR semicuantitativa usando cebador directo 5' AGAGACATGCGATTGGTGA 3' (SEQ ID NO: 344) y cebador

25 inverso 5' AGAGATGTAGACGAGGTCATT 3' (SEQ ID NO: 345) para mostrar alta expresión en neuronas, baja expresión en oligodendrocitos y ausencia de expresión en astrocitos.

La expresión de Sp35 en oligodendrocitos se confirmó por hibridación *in situ* en secciones obtenidas del nervio

30 óptico de rata adulta. Las secciones de nervio óptico de rata se prepararon y procesaron tal como se describe en Mi *et al.*, "Sp35 is a component of the Nogo-66 receptor/p75 signaling complex", *Nat. Neurosci.* 7: 221-28 (2004) y se sondearon con ARN de sentido directo o antisentido Sp35 marcado con digoxigenina usando los 500 primeros nucleótidos de la secuencia codificante de Sp35. Se tiñeron las secciones de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes usando un kit Tyramide Signal Amplification kit (Amersham Biosciences) y un kit de anticuerpo conjugado anti-digoxigenina fluorescente (Perkin Elmer). Para análisis *in situ* y de inmunofluorescencia combinados, primero se

35 sondearon las secciones con ARN marcados con digoxigenina y a continuación con anticuerpos, por ejemplo, anticuerpo CC1 (Calbiochem; un marcador de oligodendrocitos maduros) o anticuerpo anti-Sp35. Los autores de la invención observaron que los oligodendrocitos que hibridaron con una sonda Sp35 antisentido también se tiñeron conjuntamente con un anticuerpo para CC1 (datos no mostrados). No se observó marcado específico usando una sonda Sp35 de sentido directo. La expresión de Sp35 en los oligodendrocitos se confirmó por estudios de

40 inmunohistoquímica de secciones de tejido de la región del ventrículo lateral de la corteza de rata P7. Una mayoría de las células corticales que se marcaron con anticuerpo CC1 también se marcaron con Sp35 anti-anticuerpo. Datos no mostrados. La especificidad de la interacción se confirmó por preadsorción del anticuerpo anti-Sp35 con Sp35-Fc (véase Ejemplo 2), que eliminó la señal.

45 La inactivación de ARNi específica de Sp35 de la expresión de Sp35 promueve crecimiento y diferenciación de oligodendrocitos

Se usó ARNi específico de Sp35 para la ablación de la expresión de Sp35 en células precursoras de oligodendrocitos para examinar el modo en que Sp35 contribuye al crecimiento y diferenciación de oligodendrocitos.

50 Se infectaron 50.000 células precursoras de oligodendrocitos A2B5 con lentivirus que transportaban secuencia de ARNi específica de Sp35 o ARNi de control preparados del modo siguiente.

Se compararon secuencias de ADN de Sp35 murinas y de rata para encontrar regiones homólogas para el uso de ARN de horquillas pequeñas (shRNA) candidatos. Se construyó CH324, para expresión por lentivirus de ARNi de

55 Sp35 por hibridación de oligonucleótidos LV1-035 y LV1-036 y ligado a *HpaI* y *XhoI* digerido pLL3.7. El vector pLL3.7, la metodología adicional y la producción de virus fueron tal como se describe en Rubinson *et al.*, *Nat. Genet.* 33, 401-06 (2003). Los oligonucleótidos ARNi de Sp35 se adquirieron en MWG y tienen las siguientes secuencias: LV1-035 (oligo de sentido directo) 5' - TGA TCG TCA TCC TGC TAG ACT TCA AGA GAG TCT AGC AGG ATG ACG ATC TTT TTT C - 3' (SEQ ID NO: 346) y LV1-036 (oligo antisentido) 5' - TCG AGA AAA AAG ATC GTC ATC

60 CTG CTA GAC TCT CTT GAA GTC TAG CAG GAT GAC GAT CA - 3' (SEQ ID NO: 347).

Se diseñó ARNi de control con las mismas secuencias de oligonucleótidos con la salvedad de los cambios en los nucleótidos indicados en letras minúsculas: 5'-TGA TCc TCA TcC ttC Tat ACT TCA AGA GAG TgT AGC AGG ATG AcG ATC TTT TTT CTC GA-3' (SEQ ID NO: 348) y 5'-TCG AGA AAA AAG ATC GTC ATC CTG CTA GAC TCT CTT 5 GAA GTa TAG aAG GAT GAC GAT CA-3'. (SEQ ID NO: 349).

Antes de producir el lentivirus, se cotransfectó ADN de pLL3.7 o shRNA candidato en pLL3.7 con plásmido marcado con Sp35-HA murino en una proporción de 5 a 1 en células CHO en un formato de 6 pocillos. La inactivación se analizó mediante detección por Western blot de la marca Sp35-HA a partir de lisados celulares CHO transfectados así como por Northern blot del ARN total preparado a partir de pocillos duplicados. Se sondeó el blot con un fragmento de ADNc de Sp35. Los ensayos se realizaron 48 horas después de la transfección. Como se esperaba, se produjo una reducción de 10 veces del ARNm de Sp35 en células CHO tratadas con ARNi de CH324 en relación con células tratadas con control. Datos no mostrados. Se generaron lentivirus de ARNi que transportan proteína fluorescente verde (GFP) tal como se describe en Rubinson *et al.* En cultivos tratados con control o con ARNi de Sp35, aproximadamente el 80 % de los oligodendrocitos fueron positivos para GFP. El número total de células no se vio alterado por los tratamientos con ARNi. Para cuantificar los efectos de ARNi en la diferenciación, solo se contaron los oligodendrocitos que expresan GFP.

Se cultivaron poblaciones de oligodendrocitos enriquecidas a partir de ratas Long Evans P2 hembra tal como se describe en Conn, *Meth. Neurosci.* 2:1-4 (Academic Press; 1990) con las siguientes modificaciones. Brevemente, se diseccionó el prosencéfalo y se colocó en solución salina con tampón de Hank (HBSS; Invitrogen). Se cortó el tejido en fragmentos de 1 mm y se incubó a 37 °C durante 15 min en tripsina al 0,01 % y 10 µg/ml de ADNasa. Se sembraron las células disociadas en matraces de cultivo tisular T75 recubiertos con poli-L-lisina y se cultivaron a 37 °C durante 10 d en medio DMEM con suero de ternera fetal al 20 % (Invitrogen). Los precursores de oligodendrocitos (A2B5⁺) se recogieron por agitación del matraz durante toda la noche a 200 rpm a 37 °C, para producir una población pura al 95 %. Se mantuvieron los cultivos en medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) rico en glucosa con FGF/PDGF (10 ng/ml; Peprotech) durante 1 semana. La eliminación de FGF/PDGF permitió que las células A2B5⁺ se diferenciaron en oligodendrocitos premielinizantes O4⁺ después de 3-7 d, y para diferenciarse en oligodendrocitos maduros O4⁺ y MBP⁺ después de 7-10 d. Estos estados de diferenciación son fácilmente visibles a partir de cambios en la morfología: las células A2B5⁺ tienen forma bipolar, los oligodendrocitos premielinizantes O4⁺ tienen prolongaciones más largas y ramificadas y los oligodendrocitos MBP⁺ maduros contienen estructuras de láminas de mielina entre las prolongaciones.

Las células precursoras de oligodendrocitos A2B5 se infectaron con el lentivirus que contenía el ARNi de CH324. Se cultivaron las células resultantes durante 3 días y se contó el número de oligodendrocitos positivos para O4 (un marcador para diferenciación de oligodendrocitos). Se redujo la expresión de Sp35 endógena por infección con lentivirus de ARNi de Sp35 y se confirmó por RT-PCR. La reducción de Sp35 produjo oligodendrocitos maduros más diferenciados que las células infectadas con control, como resulta evidente por los aumentos en la longitud de las prolongaciones celulares y por la presencia de abundantes estructuras de láminas de mielina (datos no mostrados). En células que expresaban ARNi de Sp35, había oligodendrocitos tres veces más maduros (positivos a O4) que en los cultivos de control. Estos datos indican que Sp35 puede regular negativamente la diferenciación de oligodendrocitos.

El Sp35 negativo dominante promueve el crecimiento y diferenciación de oligodendrocitos

Se construyeron vectores de lentivirus que expresan una forma presente en la naturaleza y una forma negativa dominante de Sp35. Se amplificó por PCR la secuencia de ADN que codifica Sp35 de ratón de longitud completa (FL-Sp35, residuo de aminoácidos 34-614 de SEQ ID NO: 2) usando cebadores 5' - GAG GAT CTC GAC GCG GCC GCA TGG AGA CAG ACA CAC TCC TG - 3' (SEQ ID NO: 350) y 5' - GGG GCG GAA TTG GAT CCT CAC AGA TCC TCT TCT GAG ATG AG-3' (SEQ ID NO: 351) y se insertó en el vector de lentivirus HRST-IRESeGFP en los sitios *NotI* y *BamHI*. De forma similar, la secuencia de ADN que codifica Sp35 negativo dominante (DN-Sp35, residuo de aminoácidos 34-581 de SEQ ID NO: 2) se amplificó por PCR usando cebadores 5' - GAG GAT CTC GAC GCG GCC GCA TGG AGA CAG ACA CAC TCC TG - 3' (SEQ ID NO: 352) y 5' - GAT ACG GAT CCT CAG CCT TTG CCC CGG CTC CAT AGA AAC AGC -3' (SEQ ID NO: 353). Los plásmidos FL-Sp35 y DN-Sp35 se transfectaron en células 293 para producir lentivirus tal como se describe por Rubinson *et al.*, "A lentivirus-based system to functionally silence genes in primary mammalian cells, stem cells and transgenic mice by ARN interference", *Nat. Genet.* 33: 401-06 (2003). Los oligodendrocitos se infectaron con lentivirus a 2 MOI por célula y confirmaron la de FL-Sp35 y DN-Sp35 por Western blot.

DN-Sp35 promovió la diferenciación de oligodendrocitos, que produjo un aumento en el número de oligodendrocitos

maduros. En cambio, la hiperexpresión de Sp35 de longitud completa (FL-Sp35) tuvo el efecto contrario e inhibió la diferenciación, como resultó evidente por una reducción en el número de oligodendrocitos maduros en comparación con el control (datos no mostrados).

5 EJEMPLO 2

Construcción y purificación de proteína de fusión Sp35-Fc

Se preparó una construcción que fusionaba la parte extracelular de Sp35 humano (residuos 1-532) con la región bisagra y Fc de IgG1 humano para estudiar la función biológica de Sp35. Se obtuvo una secuencia codificante parcial para Sp35 humano por PCR a partir del clon 227.2 usando el cebador directo 5' - CAG CAG GTC GAC GCG GCC GCA TGC TGG CGG GGG GCG T - 3' (SEQ ID NO: 354) y el cebador inverso 5' - CAG CAG GTC GAC CTC GCC CGG CTG GTT GGC CAA CCA GCC GGG CGA GGT CGA CCT CGA GG - 3' (SEQ ID NO: 355).

15 Se subclonó el producto PCR de extremos romos en el sitio *SrfI* del vector PCR SCRIPT AMP (Stratagene) para crear PCR SCRIPT AMP-Sp35. Se aisló un fragmento *SaII* a partir de PCR SCRIPT AMP-Sp35 y se subclonó en el vector de Ig PCRCAMP (derivado de vector PCR SCRIPT AMP de Stratagene). En el vector de Ig PCRCAMP, se subclona la secuencia gamma Fc y bisagra como un fragmento *SaII*(5') a *NotI*(3'). Se subclonó el fragmento Sp35 *SaII* en el sitio *SaII* del vector de Ig PCRCAMP fusionando así la secuencia señal Sp35 y el dominio extracelular (codones 1-532) en marco con las secuencias que codifican la región bisagra y Fc de Ig1 humana. Se identificaron los aislados correctos, y se subclonó un fragmento *NotI* que comprendía el fragmento Fc Sp35 en el sitio de clonación *NotI* individual del vector de expresión de CHO, PV90 (Biogen Idec). El plásmido resultante se confirmó por secuenciación de ADN y se denominó GT123.

25 Se generaron líneas celulares estables en la proteína de fusión Sp35-Fc por electroporación de células hospedadoras CHO DG44 con plásmido GT123. Se cultivaron las células CHO transfectadas en MEM alfa menos en presencia de suero dializado al 10 % y glutamina 4 mM para seleccionar crecimiento independiente de nucleósidos. Catorce días después de la transfección, se suministró a las células medio nuevo. Para cribar las células que expresan Sp35-Fc, se marcaron células CHO con IgG antihumana de cabra marcada con ficoeritrina (PE) (Jackson Labs) y se sometieron a citometría de flujo de alta velocidad que las clasificó en FACS Mo-Flo (Cytomation). Se seleccionaron las células que expresaban los niveles más altos de Sp35-Fc. Estas células se expandieron en cultivo durante 7 días, a continuación, se remarcaron y se reclasificaron. Se aislaron las células que expresan los niveles más altos de Sp35-Fc como clones individuales en placas de 96 pocillos. Estos clones se cultivaron durante dos semanas y, a continuación, se les suministró medio nuevo un día antes del análisis FACS para verificar los niveles de expresión. Se expandieron los clones que expresaban los niveles más altos de Sp35-Fc, y se establecieron bancos de células congeladas. Las líneas celulares se adaptaron para crecimiento en cultivo en suspensión en el medio libre de suero BCM16. Se determinó la valoración de Sp35-Fc producido por estos clones cultivando líneas celulares a 37 °C durante 4-5 pasos, y, a continuación, se cultivaron las células a una densidad celular máxima del 50 % y se cultivaron durante 10-15 días a 28 °C hasta que la densidad celular viable disminuyó al 75 %. En este momento, se recogió el medio de cultivo, se limpió de células y residuos por centrifugación y se valoraron los sobrenadantes de cultivo en cuanto a los niveles de Sp35-Fc por análisis por Western blot usando un anticuerpo Ig antihumano (Jackson Lab) como sonda.

La proteína de fusión Sp35-Fc se purificó a partir del medio de cultivo aclarado del modo siguiente: se añadieron 9 ml de HEPES 1 M pH 7,5 a 900 ml de medio acondicionado. Se cargó el medio en lotes durante 3 h a 4 °C en 3 ml de Proteína A Sefarosa (Amersham Bioscience). Se recogió la resina en una columna de 1,5 cm (D.I.), y se lavó cuatro veces con 3 ml de PBS, dos veces con 4 ml de PBS que contenía NaCl 800 mM y después de nuevo con 3 ml de PBS. Sp35-Fc se eluyó de la columna con NaH₂PO₄ 25 mM, pH 2.8 y NaCl 100 mM en fracciones de 1,5 ml y se neutralizó añadiendo 75 µl de NaH₂PO₄ 0,5 M, pH 8,6. Se identificaron fracciones que contenían proteínas máximas por absorbancia a 280 nm, se guardaron en reserva y se sometieron a mayor purificación en una columna de Proteína A de 1 mL. Antes de la carga, se añadió NaCl a 600 mM y HEPES, pH 7,5 a 50 mM. Se lavó la columna dos veces con 600 µl de HEPES 10 mM pH 7,5 y NaCl 1 M, y, a continuación, con PBS 1 ml. Se eluyó Sp35-Fc a partir de la columna con NaH₂PO₄ 25 mM, pH 2.8 y NaCl 100 mM, recogiendo fracciones de 0,5 mL, y se neutralizó añadiendo 25 µl de NaH₂PO₄ 0,5 M, pH 8,6. Se identificaron fracciones que contenían proteínas máximas por absorbancia a 280 nm y se guardaron en reserva. Al reducir SDS-PAGE, la proteína Sp35-Fc migró como una única banda (>95 % de pureza) con una masa aparente de 90 kDa. En condiciones de no reducción, la proteína actuó como un dímero con una masa aproximada de 180 kDa. Se repartió la proteína Sp35-Fc purificada en partes alícuotas y se almacenó a -70°C.

60 EJEMPLO 3

Producción de anticuerpos monoclonales específicos de Sp35

Se prepararon anticuerpos anti-Sp35 que se unen específicamente a un polipéptido Sp35 de la descripción usando los siguientes métodos y procedimientos.

A. Ensayos de cribado de anticuerpos

1. Ensayo ELISA

Se añadió Sp35-Fc (0,5 µg en 50 µl de tampón de bicarbonato de sodio 0,1 M, pH 9,0) a cada pocillo de placas de MaxiSorp™ de 96 pocillos (Nunc™). A continuación, se incubaron las placas a 37 °C durante 1 hora o 4 °C durante 16 horas. Se bloquearon los sitios de unión no específicos en las placas usando HEPES 25 mM, pH 7,4 que contenía BSA al 0,1 %, ovoalbúmina al 0,1 %, leche seca desnatada al 0,1 % (5 % (p/v) en NACE 150 mM) y azida al 0,001 %. Se añadieron diluciones de sobrenadantes de hibridoma o suero (por ejemplo, diluciones en serie tres veces) en cada hilera de la placa, y se incubó a 25 °C durante 1 hora. Después de lavar tres veces con PBS, se añadieron 50 µl de una dilución 1:10.000 de anticuerpo secundario antirratón de cabra conjugado con peroxidasa de rábano picante (Jackson InmunoResearch Inc.) a cada pocillo y se incubó durante 1 hora más. Después de tres lavados, se desarrolló el color por TMB (Pierce) y se interrumpió con ácido sulfúrico 2 M. Se vigiló la intensidad del color en un espectrofotómetro a 450 nm.

2. Ensayo FACS

Se marcaron células COS-7 o células CHO con CellTracker™ Green CMFDA 0,1 µM (Molecular Probes, Eugene, OR) tal como describe el vendedor. Se mezclaron volúmenes iguales de células de control marcadas CellTracker™ con células Sp35-COS-7 o células Sp35-CHO lavadas (producidas por transfección temporal de vector de expresión de Sp35) antes de la incubación con sueros de prueba anti-Sp35 o sobrenadantes de hibridoma. Se dispensaron 50 ml de la mezcla celular en cada pocillo de placas de poliestireno de base en V de 96 pocillos (Costar® 3877, Corning, NY) y se añadieron 100 µl de suero de ratón, sobrenadante de hibridoma o un anticuerpo anti-Sp35 de control. Después de incubación a 4 °C durante 30 minutos, se lavaron las células y se incubaron con 50 µl de segundo anticuerpo específico de IgG Fc gamma antirratón de cabra de fragmento F(ab')₂ de afinidad pura conjugado con ficoeritrina (1:200, Jackson InmunoResearch Laboratory, West Grove, PA) en PBS. Al final de la incubación, se lavaron las células dos veces con PBS y se suspendieron en 200 µl de PBS que contenía suero bovino fetal (FBS) al 1 %, y se sometieron a análisis FACS. Alternativamente, las células Sp35-COS-7 o las células Sp35-CHO se mezclaron con suero de ratón o sobrenadante de hibridoma y a continuación se trataron con anticuerpo secundario antirratón de cabra conjugado con R-ficoeritrina y se sometieron directamente a análisis FACS estándar.

B. Producción de hibridoma de anticuerpos monoclonales anti-Sp35 murinos

Se inmunizó por vía peritoneal a ratones RBF hembra de ocho semanas (Jackson Labs, Bar Harbor, ME) con una emulsión que contenía 50 µg de Sp35-Fc (aminoácidos 34 a 532 de SEQ ID NO: 2 fusionada con la región bisagra y Fc de IgG1 humana), producidos tal como se describe en el Ejemplo 2 o se inmunizó por vía intraperitoneal con una emulsión que contenía 50 µg de Sp35 humano-Fc, y 50 µl de adyuvante de Freund completo (Sigma® Chemical Co., St. Louis, MO) una vez cada dos semanas. Se recogieron sueros de los ratones inmunizados antes de la primera inmunización y 1 semana después de las inmunizaciones segunda y tercera, y se midieron valoraciones de anticuerpo anti-Sp35 por ensayo FACS en células COS-7 de expresión Sp35 tal como se describe anteriormente. Se administró una dosis final de recuerdo después de la tercera inmunización y tres días antes cuando se iniciaron fusiones de hibridoma.

Se sometieron a cribado mediante ELISA los sueros de ratones inmunizados con los diversos péptidos Sp35 tal como se describe anteriormente. Los ratones con resultado positivo de anticuerpos que se unieron específicamente a células COS-7 que expresan Sp35 se identificaron por citometría de flujo (FACS) tal como se describe anteriormente, y se sacrificaron. Se aislaron esplenocitos de los ratones y se fusionaron con el mieloma FL653 (un derivado de APRT de un mieloma de ratón Ig-/HGPRT- Balb/c, mantenido en DMEM que contenía FBS al 10 %, 4.500 mg/L de glucosa, L-glutamina 4 mM y 20 mg/ml de 8-azaguanina) tal como se describe en Monoclonal Antibodies. Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses, ed. Kennett, R.H., McKearn, T.J. y Bechtol, K.B. Nueva York: Plenum Press (1982). Se sembraron las células fusionadas en polacas de 24 o 48 pocillos (Corning Glass Works, Corning, NY), y se suministró adenina, aminopterina y timidina (AAT, disponible en Sigma® Chemical Co., St. Louis, MO) que contenía medio de cultivo. Se sometieron a cribado cultivos resistentes a AAT por ELISA o

citometría de flujo tal como se describe anteriormente en cuanto a su unión con células COS-7 Sp35 o con Sp35-Fc. Se subclonaron adicionalmente los hibridomas positivos por dilución limitante.

Se aislaron 17 líneas celulares de hibridoma que producían anticuerpos monoclonales producidos a partir de ratones inmunizados con Sp35-Fc. Las propiedades de los anticuerpos monoclonales derivados de hibridoma se muestran en las tablas 3A y 3B.

Se aislaron por PCR polinucleótidos que codifican los dominios variables (V_H y V_L) de los anticuerpos monoclonales 1A7, 2F3, 3P1D10.2C3 y 3P1E11.3B7 PCR, se clonaron y se sometieron a análisis de secuencias mediante el siguiente procedimiento. Se extrajo ARN total de células de hibridoma usando el mini kit Qiagen® RNeasy® y se generó ADNc a partir del ARN aislado por RT-PCR, usando condiciones estándar. Para la RT-PCR se usó un cóctel de cebadores. Un conjunto preferente de cebadores incluyó un cebador con el 5' del cebador que se hibrida con la secuencia señal y el extremo 3' del cebador se hibrida con el dominio constante 3' de la unión de FR4/dominio constante. Esto permite la amplificación de un dominio variable intacto sin ambigüedades en torno al extremo N del anticuerpo monoclonal y la unión V/C. Un experto en la materia reconocerá que es preciso modificar los conjuntos de cebadores para amplificar diferentes plantillas y para diferentes condiciones de PCR. En ocasiones, la presencia de mensajes no productivos muy abundantes (por ejemplo, la cadena ligera no productiva con desplazamiento de marco CDR3-FR4 de la pareja de fusión) o mensajes productivos no específicos puede producirse y complicar la clonación de cadenas variables. Una solución consiste en usar datos de secuencias de extremo N a partir del anticuerpo purificado auténtico para diseñar un cebador degenerado y permitir la clonación. Alternativamente, se pueden usar cebadores de "marco universal", tales como los descritos en Orlandi *et al.*, PNAS 86:3833 (1989), que "fijan" los extremos N y C de los dominios variables (es decir, el extremo N de FR1 y el extremo C de FR4 están determinados por el cebador).

Además, los datos de secuencias, para diseñar cebadores más efectivos, pueden obtenerse de los productos RT-PCR en volumen que han sido purificados por gel y, a continuación, secuenciados. El producto PCR también puede subclonarse usando, por ejemplo, TOPO Cloning Kit (Invitrogen) y después secuenciar. A continuación, se obtienen los datos de secuencia a partir de múltiples subclones independientes o fragmentos purificados por gel para establecer firmemente la secuencia de consenso.

La secuencia de la cadena ligera del P1E11.3B7 se determinó usando un cóctel de cebadores de la secuencia señal de cadena ligera kappa murina en 5': (i) 5' GGG GAT ATC CAC CAT GGA TTT TCA GGT GCA GAT TTT CAG 3' (SEQ ID NO: 356), (ii) 5' GGG GAT ATC CAC CAT GRA GTC ACA KAC YCA GGT CTT YRT A 3' (SEQ ID NO: 357), (iii) 5' GGG GAT ATC CAC CAT GAA GTT GCC TGT TAG GCT GTT G 3' (SEQ ID NO: 358) y (iv) 5' GGG GAT ATC CAC CAT GAG GKC CCC WGC TCA GYT YCT KGG A 3' (SEQ ID NO: 359), con un único cebador de dominio constante kappa murino en 3': 5' GCG TCT AGA ACT GGA TGG TGG GAG ATG GA 3' (SEQ ID NO: 4), donde K=G/T, R=A/G, W=A/T y S=C/T. Se subclonó el producto de PCR resultante y se secuenciaron múltiples subclones independientes. La secuencia de consenso deducida estaba de acuerdo con los datos de secuenciación de degradación de Edman. La secuenciación indicó que el cebador en 5' de la secuencia señal degenerada 5' GGG GAT ATC CAC CAT GRA GTC ACA KAC YCA GGT CTT YRT A 3' (SEQ ID NO: 357) fue el que había producido el dominio variable de cadena ligera 3P1E11.3B7 durante la amplificación.

La secuencia de cadena pesada 3P1E11.3B7 se determinó usando un cóctel de cebadores PCR de 5' de la secuencia señal de cadena pesada murina: (i) 5' GGG GAT ATC CAC CAT GGR ATG SAG CTG KGT MAT SCT CTT 3', (SEQ ID NO: 360) (ii) 5' GGG GAT ATC CAC CAT GRA CTT CGG GYT GAG CTK GGT TTT 3' (SEQ ID NO: 361), y (iii) 5' GGG GAT ATC CAC CAT GGC TGT CTT GGG GCT CTT CT 3' (SEQ ID NO: 362), con un cebador 3' de dominio constante de IgG CH1 murino degenerado 5' AGG TCT AGA AYC TCC ACA CAC AGG RRC CAG TGG ATA GAC 3' (SEQ ID NO: 363), donde K=G/T, M= A/C, R=A/G, y S=C/T. PCR usando este cóctel de cebadores, con diversas condiciones de ciclado diferentes, no logró producir una secuencia de dominio variable de cadena pesada en la que el extremo N deducido estuviera de acuerdo con el determinado por la secuencia de degradación de Edman del anticuerpo 3P1E11.3B7 purificado. Los autores de la invención usaron por tanto los cebadores universales de cadena pesada: FR1 5' AGG TSM ARC TGC AGS AGT CWG G 3' (SEQ ID NO: 364) y FR4 5' TGA GGA GAC GGT GAC CGT GGT CCC TTG GCC CCA G 3' (SEQ ID NO: 365), donde M= A/C, R=A/G, S=C/G, y W=A/T. Este conjunto produjo un dominio variable de cadena pesada murino cuya secuencia deducida estuvo de acuerdo con los datos de 3P1E11.3B7 empíricos.

Con el fin de verificar que los extremos N y C del dominio variable de cadena pesada eran auténticos y no estaban determinados por el cebador, se realizó otra reacción de PCR con un cebador de secuencia señal degenerado 5' ATG GAR TGY AAY TGG ATH CTN CCN TTY A 3' (SEQ ID NO: 366) y el cebador 3' de dominio constante mencionado anteriormente 5' AGG TCT AGA AYC TCC ACA CAC AGG RRC CAG TGG ATA GAC 3' (SEQ ID NO:

367), donde H=A/C/T, N=A/C/G/T, R=A/G, y S=C/T. El diseño del cebador de secuencia señal degenerado se basó en secuencias señal de los mejores aciertos derivados de una búsqueda TFASTA de la base de datos de secuencias de roedores Genbank consultada con la secuencia de consenso deducida FR1 de 3P1E11.3B7 de la reacción de PCR con el "cebador universal" descrito anteriormente. Esta PCR produjo un producto con un dominio variable de cadena pesada murino completo.

Los dominios variables murinos 3P1E11.3B7 completos se usaron (con mutagénesis silente según lo necesario para introducir sitios de restricción) en conjunción con ADNc de dominio constante IgG1 y kappa humanos para construir ADNc quiméricos de cadena pesada y ligera, respectivamente. Los ADNc de inmunoglobulina de longitud completa se subclonaron en un vector de expresión denominado pNE001, un derivado del vector de expresión episomal de células de mamífero de VEB comercial pCEP4. Los vectores de expresión de cadena pesada y ligera (denominados pXW372 y pXW363, respectivamente) se cotransfectaron en células 293-EBNA. Los análisis por Western blot (sondeados con reactivos específicos de IgG humana) de medio acondicionado de células transfectadas de forma transitoria confirmaron la expresión de AMc kappa quiméricos 3P1E11.3B7-huIgG1. Las secuencias de polipéptidos VH y VL de 3P1E11.3B7 resultantes se muestran en las tablas 6 y 8 y son las SEQ ID NO: 173 y 209, respectivamente. Las secuencias de cadena pesada y ligera para los anticuerpos monoclonales 1A7, 2F3, y 3P1D10.2C3 se determinaron por procedimientos similares.

C. Identificación de anticuerpos monoclonales anti-Sp35 por presentación de fagos

Los fragmentos Fab del anticuerpo monoclonal anti-Sp35 se identificaron y aislaron a partir de bibliotecas de presentación de fagos tal como se describe en Hoet *et al.*, *Nat. Biotech.* 23:344-348 (2005); Rauchenberger, *et al.*, *J. Biol. Chem.* 278:194-205 (2003); y Knappik, *et al.*, *J. Mol. Biol.* 296:57-86 (2000).

La biblioteca de presentación de fagos Fab MorphoSys HuCAL® GOLD ("Biblioteca de presentación de fagos 2" en la tabla 3B), que comprende regiones variables de anticuerpos sintéticos humanizados se cribó frente a proteína Sp35-Fc soluble humana recombinante por procedimientos de cribado ELISA e IHC estándar. Véase, por ejemplo, Ostendorp, R., Frisch, C. y Urban M, "Generation, engineering and production of human antibodies using HuCAL®". *Anbitodies, Volume 2 Novel Technologies and Therapeutic Use*. Nueva York: Kluwer Academic/Plenum 13-52 (2004). Los fagos Fab que se unieron específicamente a Sp35 se purificaron y se caracterizaron. Las propiedades de estos fragmentos Fab de anticuerpo monoclonal derivados de presentación de fagos se muestran en la tabla 3B como "fragmentos Fab monoclonales derivados de biblioteca de presentación de fagos 2". Se seleccionó el fago Fab 1968 para un análisis adicional.

EJEMPLO 4

Inmunoprecipitación de Sp35 por anticuerpos monoclonales anti-Sp35

Para realizar la inmunoprecipitación, se produjeron células COS-1 que expresaban Sp35, fusionadas con una marca de hemaglutinina (HA) en el extremo N, mediante transfección transitoria de células COS-1 con una construcción de ADN que expresa la proteína Sp35 de longitud completa con una marca HA. Se recogieron las células 48 h después de la transfección y se lisaron en 1 ml de tampón de lisis (HEPES 50 mM, pH 7,5, NaCl 150 mM, MgCl₂ 1,5 mM, EGTA 1 mM, Triton X-100 al 1 % y glicerol al 10 %) durante 30 min a 4°C. Después de centrifugado a 14.000xg durante 15 min, se incubaron los sobrenadantes con perlas de Proteína A/G-Sefarosa (Santa Cruz) a 4 °C durante 1 h y, a continuación, se incubaron a 4 °C durante 1 h con los anticuerpos monoclonales 1A7 o 2F3 anticuerpos anti-Sp35 murinos. Se lavaron las perlas 3 veces con tampón de lisis, se hirvieron en tampón de muestra Laemmli, se sometieron a SDS-PAGE al 4-20 % y se analizaron por Western blot usando un anticuerpo que reconoce la marca HA. Tal como se muestra en el gel de SDS-PAGE, los anticuerpos monoclonales 1A7 y 2F3 inmunoprecipitaron Sp35 humano y murino (Fig. 1). Tal como se muestra en la Fig. 1, el anticuerpo monoclonal 2F3 inmunoprecipitó intensamente Sp35 humano y murino, mientras que el anticuerpo monoclonal 1A7, que inmunoprecipitó intensamente Sp35 humano, reconoció la proteína Sp35 murina solo débilmente. De forma similar, los anticuerpos monoclonales 1G7, 2B10, 2F3, 3P4C2.2D2, 3P4C8.2G9, Li01, Li03, Li05, Li06, Li07, Li08, Li11, Li12, 7P1D5.1G9 y 3B5.2 inmunoprecipitan Sp35 humano o de ratón o humano y de ratón (Véase la tabla 3B y 3C). Además, Li08 inmunoprecipita AP-Sp35 y los anticuerpos monoclonales 1B6.4 y 3E3.1 inmunoprecipitan Sp35 endógeno (véase la tabla 3B).

EJEMPLO 5

Anticuerpo anti-Sp35 que se une específicamente a Sp35 determinado por ELISA

60

Con el fin de determinar las regiones del polipéptido Sp35 que se unieron por los diversos anticuerpos monoclonales derivados de hibridoma y de presentación de fagos producidos en el Ejemplo 2, se realizó un ensayo ELISA usando un panel de polipéptidos Sp35 truncados, cada uno de ellos fusionado con las regiones bisagra y Fc de IgG1 por los procedimientos descritos en el Ejemplo 1. El panel consistió en los siguientes fragmentos de Sp35: aminoácidos 34-425 de SEQ ID NO: 2, aminoácidos 417-532 de SEQ ID NO: 2, aminoácidos 417-493 de SEQ ID NO: 2 y aminoácidos 34-532 de SEQ ID NO: 2. Se usaron ovoalbúmina y BSA como controles. Tal como se muestra en la tabla 3B, los AMc derivados de hibridoma 2F3, 2B10, 3A3, 3P4c2.2d2 y 3P4c8.2g9, y los AMc derivados de fago Fab 3383, 3563, 3564, 3565, 3568, 3569, 3570 y 3582 se unieron todos específicamente a los fragmentos de Sp35 1-417 y 1-534, lo que sugiere que estos anticuerpos se unen a los epítomos en la región LRR de Sp35. Los AMc derivados de hibridoma 1A7, 3P1B11F9, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C63G10.2H7, 2P2C9.2G4, 3P4A61D9 y 394C51D8, y los AMc derivados de fago Fab 3495, 3566, 3567 y 1968 se unen específicamente al fragmento de Sp35 34-532 y se unen débilmente al Sp35 417-532, lo que sugiere que estos anticuerpos se unen probablemente a epítomos que incluyen al menos una parte de extremo C de Sp35 en la región LRR. En experimentos similares, estos últimos anticuerpos se unieron también específicamente a un polipéptido Sp35 que consistía en los aminoácidos 34-534 de Sp35 humano y con baja afinidad a Sp35 de ratón y de rata. La afinidad de estos últimos anticuerpos para Sp35 de ratón y rata fueron restaurados al nivel observado usando Sp35 humano cuando en el aminoácido 419 del Sp35 de ratón o rata se cambió de histidina (H) a arginina (R). La arginina es el aminoácido en la posición 419 en Sp35 humano. La K_D para el anticuerpo monoclonal 1A7 se determinó como 10 nM (1×10^{-9} M) para la unión a Sp35 humano y 20 μ M (2×10^{-5} M) para la unión a Sp35 murino. Para ELISA Ap-Sp35 para detectar los anticuerpos unidos a la región 417 a 532, la ELISA se realizó del modo siguiente: los AMc se recubrieron en placas ELISA, a continuación, se incubaron con una proteína de fusión Sp35-AP a 4 °C durante toda la noche seguido por anti-humano unido a AP (H+L) (1:5.000, Jackson InmunoResearch) a t.a. durante 1 h o bien con proteínas de fusión AP a 4 °C durante toda la noche. A continuación, se desarrolló el sustrato AP mediante 10 mg/ml de 4NPP en glicina 0,1 M, MgCl₂ 1 mM, ZnCl₂ 1 mM, pH 10,5 y se leyó a D.O. 405.

En experimentos similares, se probaron los anticuerpos monoclonales 3B5.2 y 7P1D5.1G9, así como el fragmento Fab del anticuerpo 7P1D5.1G9 en ensayos ELISA para comprobar su capacidad de unirse a Sp35, la región LRR de Sp35 completa, la región Ig de Sp35 y Sp35 murino. Tal como se muestra en la tabla 3C, 3B5.2, 7P1D5.1G9 y el fragmento Fab 7P1D5.1G9 se unieron a Sp35 humano y murino. Los anticuerpos monoclonales 3B5.2 y 7P1D5.1G9 también se unieron a la región LRR de Sp35. Véase la tabla 3C.

En un ensayo de unión a Sp35 con 3B5.5 monoclonal fijado al fondo de un pocillo de cultivo tisular, los siguientes anticuerpos no bloquearon la unión a 3B5 de Sp35: Li03, Li05, Li08, Li011 y el fragmento Fab de Li013.

35 EJEMPLO 6

Anticuerpo anti-Sp35 que se une específicamente a Sp35 determinado por FACS

Para caracterizar adicionalmente las propiedades de unión de los AMc anti-Sp35 derivados de hibridoma 1A7 y 2F3 producidos tal como se describe en el Ejemplo 3, se comparó la unión a células COS-7 o 293 tanto fijadas como vivas que expresan Sp35 humano o de ratón. Se fijaron células transfectadas y no transfectadas de Sp35 y se sometieron a análisis FACS (FACS: se disociaron células transfectadas con Sp35 humano o de ratón o control de vector de placas de cultivo, se lavaron con FBS/PBS al 2 % y se incubaron con anticuerpo primario a 1 μ g/ml en hielo durante 1 h. Se lavaron las células 3 veces con 2 % FBS/PBS, a continuación, se incubaron con anticuerpo secundario marcado con PE (1:100, JacksonInmunoResearch) en hielo durante 30 min. Después de 2 lavados con FBS/PBS al 2 %, se fijaron las células en PFA al 2 % y se sometieron a análisis FACS por PE). El resultado de FACS mostró que los AMc 1A7 y 2F3 se unieron a las células COS-7 o 293 que expresaban Sp35, pero no se unieron a células de control sin expresión Sp35 (Fig. 2).

En experimentos similares, se usaron células CHO transfectadas de forma estable con Sp35 en análisis FACS para caracterizar adicionalmente las propiedades de unión de 3B5.2 y 7P1D5.1G9. Tal como se muestra en la Fig. 11, 3B5.2 y 7P1D5.1G9 se unieron a Sp35 en las células transfectadas CHO. Específicamente, se probó en los anticuerpos 3B5.2 y 7P1D5.1G9 su capacidad de unirse a células CHO transfectadas con, y que expresan, Sp35 humano o murino. Tal como se muestra en la Fig. 11, el número de células a las que se unen los anticuerpos 3B5.2 y 7P1D5.1G9, medido por la fluorescencia media (MCF), aumentó con la concentración de anticuerpo usada. Además, el anticuerpo 3B5.2 se unió a más células medido por fluorescencia media (MCF) que el 7P1D5.1G9.

EJEMPLO 7

60 Ensayo de crecimiento de neuritas

Para ensayar la capacidad de los anticuerpos monoclonales derivados de hibridoma y derivados de fago Fab producidos anteriormente de invertir el efecto inhibidor de los inhibidores de mielina en el SNC, por ejemplo, OMgp, en las neuronas, se recubrieron portaobjetos de cultivo Lab-Tek® (4 pocillos) con 0,1 mg/ml de poli-D-lisina (Sigma®). Se distribuyó Ap-OMgp (1 µg/mancha) o PBS en forma de gotas de 3 µl. Los portaobjetos Lab-Tek® se aclararon y recubrieron a continuación con 10 µg/ml de laminina (Gibco™). Se disociaron los ganglios de la raíz dorsal (GRD) de crías de rata Sprague Dawley P6-7 con 1 mg/ml de colagenasa tipo 1 (Worthington), se trituró con pipetas Pasteur pulidas al fuego, se presembraron para su enriquecimiento con células neuronales y finalmente se sembraron como 10.000 células/pocillo en los portaobjetos de cultivo Lab-Tek® recubiertos previamente. Se añadieron 10 µg/ml de AMc 1A7 o 2F3 inmediatamente después de sembrar los GRD. El medio de cultivo fue F12 (disponible en Gibco/Invitrogen) que contenía suero de caballo donador inactivado por calor al 5 %, suero bovino fetal inactivado por calor al 5 % y 50 ng/ml de factor de crecimiento nervioso de ratón (mNGF) y se incubó a 37 °C y en CO₂ al 5 % durante 6 horas. Después de la incubación, se fijaron los portaobjetos en paraformaldehído al 4 %/sacarosa al 20 % y se tiñeron con anticuerpo anti-βIII-tubulina TUJ1 (Covance) después de 16 horas.

Como anticuerpo secundario se añadió Alexa-Fluor® 594 antirratón (Molecular Probes) diluido a 1:300 a los portaobjetos y se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente. Los portaobjetos se cubrieron con cubreobjetos Gel/Mount™ (Biomeda™). Se adquirieron imágenes digitales 5x con el software OpenLab™ (Improvision, Inc., Lexington, MA), y se analizó en las imágenes la cuantificación del crecimiento de neuritas usando el software OPENLAB™, todo de acuerdo con los parámetros especificados por el fabricante.

Los AMc 1A7 y 2F3 protegieron los GRD de las neuronas de la inhibición del crecimiento de las neuritas mediada por OMgp. (Fig. 3). 3B5.2 también protegió a los GRD de las neuronas de la inhibición del crecimiento de las neuritas mediada por OMgp (datos no mostrados).

EJEMPLO 8

El anticuerpo monoclonal 1A7 promueve la recuperación funcional en el modelo de lesión de la médula espinal de rata

Se indujo una lesión de la médula espinal ("LME") hemisección dorsal del modo siguiente, modificado a partir de los procedimientos descritos anteriormente (Li, S. *et al. J. Neurosci.* 24, 10511-10520 (2004)). A ratas Long Evans hembra anestesiadas (7 semanas de vida, Charles River) se les suministró analgesia preoperatoria (Buprenorfina/Buprenex, 0,05 mg/kg s.c.) y tranquilizantes (Midazolam, 2,5 mg/kg i.p.) y se realizó una hemisección dorsal en la vértebra torácica 6/7 que interrumpía completamente el tracto dorsomedial principal y el corticoespinal (CST) dorsolateral. Los componentes dorsal y dorsolateral del tracto corticoespinal (CST) se interrumpieron completamente y la parte ventral del CST permaneció intacta. El puente de tejido ventral que quedaba después de la hemisección constituía aproximadamente el 20 % de la médula en los dos grupos de tratamiento (datos no mostrados).

Se cuantificó la función de las extremidades posteriores usando el procedimiento de valoración de campo abierto de Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) (Eby, M.T. *et al., J. Biol. Chem.* 275, 15336-15342 (2000)) y todos los animales mantuvieron déficits funcionales acusados después de la LME, con parálisis casi completa de las extremidades posteriores el día posterior a la cirugía. Inmediatamente después de la transección del CST, se insertó un catéter intratecal en el espacio subaracnoideo en T7 y se conectó con una bomba miniosmótica cebada (Alzet modelo 2004, Alza Corp) insertada en el espacio subcutáneo. Las bombas miniosmóticas suministraban proteína de control de isotipo IgG humano (5 mg/ml) o anticuerpo monoclonal 1A7 (4,8 mg/ml), de forma continua a una tasa de 0,25 µl/h durante 5 semanas. Los animales de control (tratados con IgG humana) recuperaron una función sustancial en el periodo de 5 semanas del experimento, pero alcanzaron una fase de meseta a las 3-4 semanas, para alcanzar finalmente una puntuación BBB media de $9 \pm 0,45$ (Fig. 7). En cambio, la infusión intratecal continua de 1A7 durante 5 semanas después de médula espinal transección produjo puntuaciones BBB significativamente mejoradas en los animales de control a las 5 semanas con una mejoría continua de la función en el marco de tiempo de 2-5 semanas, alcanzando una puntuación BBB media de $11,1 \pm 0,7$ (Fig. 4). Estos resultados demuestran que el tratamiento con anticuerpo monoclonal anti-Sp35 1A7 promovió la recuperación de la función después de una lesión de la médula espinal tal como se desprende del aumento en la puntuación BBB, la regeneración de axones y la menor retracción de axones observada por inmunohistoquímica de tinción de los axones. El anticuerpo 3B5.2 también promovió la recuperación después de una lesión de la médula espinal (datos no mostrados).

EJEMPLO 9

Los anticuerpos anti-Sp35 1A7, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 6P4F4.1D3, 6P4F4.1F9, 7P1D5.1G9, Li05, Li06, Li08, Li13, Li28, Li33, D05, D08 y 3B5.2 promueven la mielinización *in vitro*

5 Se investigó el papel de los anticuerpos anti-Sp35 1A7 y 2F3 en la mielinización *in vitro* tratando cocultivos de neuronas del ganglio de la raíz dorsal (GRD) y oligodendrocitos con anticuerpos anti-Sp35 1A7 y 2F3 y ensayando la mielinización por inmunohistoquímica y Western blot. Para estos estudios, fue necesario generar primero cultivos primarios de neuronas GRD y de oligodendrocitos.

10 Se cultivaron ganglios de la raíz dorsal embrionarios E14-E17 de rata Long Evans hembra tal como describen Plant *et al.*, *J. Neurosci.* 22:6083-91 (2002). Se sembraron GRD diseccionados en cubreobjetos recubiertos con poli-L-lisina (100 µg/ml) durante 2 semanas. Se incubaron las células en presencia de fluorodesoxiuridina durante días 2-6 y en medio NLA que contenía 1 x B27, 100 ng/ml de NGF (Gibco) durante los días 8-11.

15 Se cultivaron oligodendrocitos de rata del día 2 posnatal (P2) Long Evans hembra tal como describen Conn, *Meth. Neurosci.* 2:1-4 (Academic Press; 1990) con las siguientes modificaciones. Brevemente, se extirpó el prosencéfalo de ratas P2 y se colocó en medio HBSS frío (Gibco). Se cortaron los fragmentos de tejido en piezas de 1 mm y se incubó a 37 °C durante 15 min en tripsina al 0,01 % y 10 µg/ml de ADNasa. Se sembraron células disociadas en matraces de cultivo tisular T75 recubiertos con poli-L-lisina y se cultivó en DMEM con suero bovino fetal al 20 % a 37 °C durante 10 días. Se recogieron oligodendrocitos positivos para A2B5 mediante agitación de los matraces durante
20 toda la noche a 200 rpm a 37°C. Se cultivaron los oligodendrocitos A2B5 durante 7 días en DMEM (Gibco) que contenía D-glucosa 25 mM, L-glutamina 4 mM, piruvato de sodio 1 mM, 50 µg/ml de apo-transferrina humana, 5 µg/ml de insulina pancreática bovina, selenato de sodio 30 nM, hidrocortisona 10 nM, D-biotina 10 nM, 1 mg/ml de BSA, 10 ng/ml de FGF y PDGF (Peprotech). A continuación, se recogieron las células por tripsinización. Seguidamente se cocultivaron las células con las neuronas GRD en presencia o ausencia de 1, 3, 10 o 30 µg/ml de
25 anticuerpos monoclonales anti-Sp35 1A7 o 2F3, o un anticuerpo de control negativo en medio NLA que contenía suero bovino fetal al 2 %, 50 µg/ml de ácido ascórbico, 100 ng/ml de NGF (Gibco). En dicho ensayo se ha determinado que debe administrarse una dosis efectiva de anticuerpo comprendida en el intervalo de 0,1 µg/ml a 10 µg/ml, dependiendo del anticuerpo. Un experto en la materia podría determinar una dosis efectiva usando los ensayos descritos en el presente documento.

30 Se cambió el medio de cultivo y se repusieron los diversos anticuerpos monoclonales cada tres días. Después de 30 días a 37°C, se tiñeron las células cocultivadas por tinción inmunohistoquímica ("IHC") para neurofilamentos con anticuerpo anti-βIII-tubulina para identificar los axones, o anticuerpo anti-MBP para identificar los oligodendrocitos (Fig. 4A-E). Además, se lisaron las células cocultivadas y se sometieron a análisis por Western blot para cuantificar
35 la MBP (Fig. 4G). Basándose en los análisis IHC y Western blot, las células cocultivadas tratadas con los anticuerpos anti-Sp35 1A7 y 2F3 mostraron una mayor supervivencia de oligodendrocitos y neuronas, números más altos de axones empaquetados y números mayores de células positivas a MBP (Fig. 4F, 10 veces más células positivas a MBP que en los cocultivos tratados con anticuerpos de control.

40 En un experimento similar, se incubaron los cocultivos de oligodendrocitos y GRD en presencia o ausencia de anticuerpos anti-Sp35 Li05 y Li06, o un anticuerpo de control negativo. Se lisaron las células cocultivadas y se sometieron a análisis por Western blot para cuantificar la MBP (Fig. 8). Basándose en los análisis por Western blot, las células cocultivadas tratadas con anticuerpos anti-Sp35 Li05 y Li06 mostraron números mayores de células positivas a MBP, similares a las células cocultivadas tratadas con 3, 10 y 30 µg de Sp35-Fc (LINGO-1-Fc).

45 En experimentos similares se incubaron los cocultivos de oligodendrocitos y GRD en presencia o ausencia de los anticuerpos anti-Sp35 3B5.2, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 6P4F4.1D3, 6P4F4.1F9, 7P1D5.1G9, Li08, Li13, Li28 y Li33 y también promovieron la mielinización. De forma similar, los anticuerpos D05 y D08 de longitud completa también promovieron la mielinización. La dosis efectiva mínima del anticuerpo 3B5.2 y 7P1D5.1G9 necesario para
50 promover la mielinización en el experimento de cocultivo de GRD fue de 0,1 µg/ml.

Asimismo, se ensayó el fragmento Fab 7P1D5.1G9 en un ensayo de mielinización *in vitro* similar. El fragmento Fab 7P1D5.1G9 promovió la mielinización a una concentración de 1,0 µg/ml.

55 Estos resultados indicaron que el tratamiento de cocultivos de GRD-oligodendrocitos con los anticuerpos anti-Sp35 1A7, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 6P4F4.1D3, 6P4F4.1F9, 7P1D5.1G9, Li05, Li06, Li08, Li13, Li28, Li33, D05, D08 y 3B5.2 promovió interacciones de axones de oligodendrocitos maduros y mielinización en comparación con los cocultivos tratados con anticuerpos de control.

60 EJEMPLO 10

Los anticuerpos anti-Sp35 y fragmentos Fab promueven la supervivencia y mielinización de oligodendrocitos *in vivo*

Se alimentó a ratones macho adultos C57B1/6 de tipo natural con cuprizona (0,2 % molido con pienso de ratón picado en peso) durante 6 semanas para inducir desmielinización en el cuerpo caloso de acuerdo con el procedimiento descrito por Morell P *et al.*, *Mol Cell Neurosci.* 12:220-7 (1998). Brevemente, se inyectó estereotácticamente anticuerpo monoclonal anti-Sp35 1A7 en el cuerpo caloso desmielinizante en las semanas 2, 2,5 y 3 de alimentación con cuprizona, por el procedimiento descrito más adelante. En los ratones de control se inyectó estereotácticamente en los mismos intervalos con medios esterilizados que contenían anticuerpo de control.

Después de que se completaron las 6 semanas de alimentación con cuprizona, los ratones recuperaron una dieta normal durante 2, 4 y 6 semanas (pienso de ratón picado solo) para permitir la remielinización.

Los anticuerpos monoclonales 1A7 y de control se suministraron del modo siguiente. A los ratones tratados con cuprizona se les anestesió con ketamina (80 mg/kg de peso corporal) y xilacina (10 mg/kg de peso corporal) y se colocaron en un aparato de inmovilización diseñado para cirugía estereotáctica (David Kopf Instruments). Se abrió el cuero cabelludo y se inyectaron los compuestos estériles (1 μ M en 1 ml de HBSS) unilateralmente en el cuerpo caloso gravemente desmielinizado de los ratones receptores de tipo natural con una jeringa Hamilton de 10 μ l usando coordenadas estereotácticas de 0,7 mm posterior y 0,3 mm lateral al bregma a una profundidad de 1,7 mm (Messier *et al.*, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 63: 313-18 (1999)). En ratones receptores de control adicionales se inyectó estereotácticamente HBSS que no contenía compuestos. La apertura del cráneo se rellenó con Gelfoam, y se frotó la zona con penicilina y estreptomycin (Gibco) y se suturó la herida. Se sacrificó a los ratones cada semana del experimento después de la inyección y se les extrajo el encéfalo y se procesó para su análisis molecular, bioquímico e histológico.

Los animales que recibieron tratamiento con anticuerpo anti-Sp35 1A7 mostraron un aumento de la supervivencia de oligodendrocitos maduros (basado en tinción con anticuerpo CC1, Fig. 5A) y mielinización de axones por IHC usando anticuerpo de proteína anti-MBP o azul de luxol rápido (Fig. 5B). Los oligodendrocitos positivos para el anticuerpo CC1 se cuantificaron a las cuatro semanas y 6 semanas (Fig. 5C). Estos resultados indicaban que el tratamiento con anticuerpo anti-Sp35 1A7 promovió la supervivencia de oligodendrocitos maduros y la mielinización de axones en comparación con los ratones tratados con anticuerpos de control. De forma similar, los animales que recibieron el anticuerpo 1A7 o 1 μ g/ml del fragmento Fab 7P1D5.1G9 en un modelo de desmielinización de lisolecitina también promovieron la mielinización de axones en comparación con los animales de control.

EJEMPLO 11

El anticuerpo anti-Sp35 1A7 promueve la supervivencia de células ganglionares retinianas (CGR) en el modelo de transección del nervio óptico

Se ensayó el anticuerpo anti-Sp35 1A7 en un modelo de transección del nervio óptico, que investiga los factores que afectan a la función neuronal. En este estudio se usaron ratas hembra adultas jóvenes Sprague Dawley (SD). Se realizó la transección del nervio óptico derecho de cada animal intraorbitariamente a 1,5 mm del disco óptico. Se aplicó una pieza de gelfoam empapada en Fluoro-Gold (FG) al 6 % en el sitio recién transectado justo detrás del disco óptico para marcar las células ganglionares retinianas (CGR) supervivientes. Se dividió a los animales en tres grupos (n=6 en cada grupo) que recibieron anticuerpo anti-Sp35 1A7, anticuerpo de control o solo PBS, por inyección intravítrea. El volumen de cada inyección intravítrea fue de 4 μ l mientras que la dosificación de cada inyección fue de 2 μ g. Las inyecciones intravítreas se realizaron inmediatamente después de la transección del nervio óptico.

Se dejó que todos los animales sobrevivieran 1 semana. Dos días antes del sacrificio de los animales, se realizó transección del nervio óptico izquierdo de cada animal y se administró FG al 6 % tal como se describe anteriormente para marcar las CGR supervivientes, que servirían de control interno. Se sacrificaron los animales con una sobredosis de Nembutal y se diseccionaron las retinas en paraformaldehído al 4 %. Se realizaron cuatro cortes radiales para dividir las retinas en cuatro cuadrantes (superior, inferior, nasal y temporal). A continuación, se fijaron posteriormente las retinas en el mismo fijador durante 1 hora antes de que se montaran en plano con el medio de montaje (Dako). Se examinaron los portaobjetos con un microscopio de fluorescencia usando un filtro ultravioleta (longitud de onda de excitación = 330-380 nm). Se contaron las CGR marcadas a lo largo de la línea media de cada cuadrante empezando desde el disco óptico hasta el borde periférico de la retina en intervalos de 500 μ m, con una cuadrícula ocular de 200 x 200 μ m². El porcentaje de CGR supervivientes resultante de cada tratamiento se expresó por comparación con el número de CGR supervivientes en los ojos lesionados con sus ojos contralaterales. Todos los datos se expresaron como media \pm ECM. La significación estadística se evaluó mediante

ANOVA de una vía, seguido por una prueba post-hoc de Tukey-Kramer. Las diferencias se consideraron significativas para $p < 0,05$. Los animales tratados con anticuerpo anti-Sp35 1A7 mostraron más supervivencia neuronal (80 %) que los animales tratados con anticuerpo de control o PBS, que mostraron cada uno una supervivencia neuronal de solo aproximadamente el 50 % (Fig. 6).

5
EJEMPLO 12

Prueba de anticuerpos anti-Sp35 para remielinización en el modelo del aplastamiento del nervio óptico

10 El nervio óptico derecho recibe aplastamiento completo con fórceps nº 5 durante 10 segundos alrededor de 1,5 mm por detrás del globo ocular intraorbitariamente justo antes de la administración de 2 μ l de anticuerpo monoclonal 1A7, 2F3, Li05 y Li06 en 2 ml por inyección intravítrea.

Los animales reciben una segunda inyección intravítrea del mismo tratamiento una semana después de la cirugía.

15 Dos semanas después de la cirugía, se perfunden los animales con fijadores EM, se fijan posteriormente y se procesan para obtener secciones semifinas y ultrafinas. Las secciones longitudinales del nervio óptico se tiñen y se preparan para observación de mielina. Se compara la mielinización de las partes proximal y distal del nervio óptico aplastado entre diferentes grupos de tratamiento. Los animales tratados con Sp35-Fc y 1A7, 2F3, Li05 y Li06, así como los controles apropiados, serán analizados en relación con la remielinización en la parte distal del nervio óptico
20 en comparación con los controles.

EJEMPLO 13

Prueba de anticuerpos anti-Sp35 para regeneración de axones en el modelo de aplastamiento del nervio óptico

25 Se aplastó el nervio óptico derecho con fórceps nº 5 durante 10 segundos alrededor de 1,5-2 mm por detrás del globo ocular intraorbitariamente justo antes de la administración de 2 μ g de anticuerpo monoclonal 1A7 en PBS por medio de inyección intravítrea. Se sometieron a ensayo 4 ratas con el anticuerpo 1A7 y se usaron 8 ratas como animales de control. Los animales recibieron una segunda inyección intravítrea del mismo tratamiento una semana
30 después de la cirugía. Tres días antes del sacrificio de los animales de ensayo (día 11 del experimento), se inyectaron 2 ml de CTB-FITC por vía intravítrea para marcar, de forma anterógrada, los axones regeneradores del nervio óptico. En el día 14 después de cirugía, se perfundieron los animales y se fijaron posteriormente. Se procesó el nervio óptico aplastado para las secciones longitudinales congeladas. Los axones marcados con CTB-FITC, que cruzan el sitio de la lesión, se contaron como fibras regeneradoras a distintas distancias más allá del sitio de
35 aplastamiento. Cuando se inyectó 1A7 en el ojo, se observó regeneración de axones hasta 250 μ m más allá del sitio de aplastamiento. Véase Fig. 10.

EJEMPLO 14

40 Los anticuerpos anti-Sp35 promueven la remielinización y reparación en el nervio óptico usando el modelo de rata EAE inducido por MOG.

Para estos experimentos, se usó el modelo de rata de Encefalitis Autoinmunitaria Experimental (EAE) inducida por Glucoproteína Mielínica de Oligodendrocitos (MOG). Este es el modelo animal para esclerosis múltiple humana. Se
45 emulsionaron 50 μ l de 200 ng de adyuvante de Freund completo (Chondrex Inc.) más 50 μ l de 50 μ g de MOG en solución salina (1:1) y se guardó en hielo antes de ser inyectado por vía intradérmica en la base de la cola para cada animal. Se usaron ratas hembra marrones Norway, de 8-10 semanas, para todos los experimentos. La observación general en la técnica indica que el modelo EAE se induce alrededor de 15 días después de la inyección de MOG. Se puntúa en las ratas los signos clínicos de EAE. Los signos se puntúan del modo siguiente: grado 0,5, paresia distal
50 de la cola; grado 1, parálisis completa de la cola; grado 1,5, paresia de la cola y ligera paresia de las extremidades posteriores; grado 2,0, paresia unilateral grave de las extremidades posteriores; grado 2,5, paresia bilateral grave de las extremidades posteriores; grado 3,0, paresia bilateral completa de las extremidades posteriores; grado 3,5, parálisis bilateral completa de las extremidades posteriores y paresia de una extremidad delantera; grado parálisis completa (tetraplejía), estado moribundo, o muerte. Los animales reciben tratamiento una vez que se induce el
55 modelo EAE.

Se inyectaron 2 μ g/ μ l de un anticuerpo anti-Sp35 (1A7) por vía intravítrea en el día 15 tras inducción de MOG-EAE. Se inyectaron 2 μ g/ μ l del anticuerpo anti-Sp35, 1A7, dos veces más en el día 22 y el día 28. Tras terminar el experimento, se perfundieron los animales con PFA al 4 %. Los nervios ópticos se fijaron posteriormente en OsO₄ al
60 1 %, se deshidrataron y se incluyeron en Epon. Se cortaron secciones semifinas (1 μ M) y se tiñeron con azul de

toluidina para la evaluación de la mielinización. Se compararon los nervios ópticos de animales tratados con animales no tratados en regeneración de axones y remielinización en el nervio óptico. Todos los procedimientos se realizaron siguiendo un protocolo aprobado por el comité institucional para el cuidado y uso de animales (IACUC).

- 5 Los animales que recibieron tratamiento con el anticuerpo anti-Sp35 1A7 mostraron remielinización y reparación del nervio óptico en comparación con los nervios ópticos normales o los animales que se sometieron a EAE inducida por MOG, pero no recibieron tratamiento (Fig. 9). En la Fig. 9C, las flechas apuntan a los axones mielinizados. Los animales que reciben un anticuerpo que reconoce el dominio III de Proteína G de *Streptococcus* (MOPC21), no específico para Sp35, no mostraron signos de remielinización o reparación del nervio óptico en comparación con los
- 10 nervios ópticos normales o los nervios ópticos de animales no tratados (datos no mostrados). El anticuerpo antagonista Sp35 1A7 promovió la remielinización y la reparación de los nervios ópticos en un modelo de neuritis óptica de EAE inducido por MOG en rata (Fig. 9).

EJEMPLO 15

- 15 Prueba de anticuerpos anti-Sp35 para la promoción de remielinización del SNC usando el modelo de ratón de EAE inducido por MOG

Se induce EAE en la cepa mixta 129B6 de ratones por inmunización intradérmica (día 0) con 100 µg de proteína

20 MOG1-125 emulsionada con adyuvante de Freund completo (CFA). El volumen inyectado es 100 µl por ratón y se distribuye en 3 sitios (pabellón auricular, espalda y piel). La emulsión se prepara basándose en una proporción de volumen 1:1 y contiene 1 mg/ml de MOG1-125 y 2 mg/ml de *M. tuberculosis* (cepa H37Ra, Chondrex). Se administra toxina de tos ferina (200 ng/ratón) por vía intraperitoneal en el momento de la inmunización y 2 días después. Se anota diariamente el peso corporal y las puntuaciones EAE clínicas (0 = ausencia de signos clínicos; 1 = cola flácida;

25 2 = debilidad en las extremidades posteriores, alteración del reflejo de enderezamiento o marcha inestable; 3 = parálisis completa de las extremidades posteriores o reflejo de enderezamiento ausente; 4 = parálisis completa de las extremidades posteriores con cierto grado de afectación de las extremidades anteriores; 5 = animal totalmente paralizado; 6 = moribundo o muerto). Todos los procedimientos se realizan siguiendo un protocolo, aprobado por nuestro comité institucional de cuidado y uso de animales (IACUC). En el día 0 del estudio los animales reciben el

30 tratamiento con los anticuerpos monoclonales 1A7, 2F3, Li05 y Li06 o el anticuerpo de control. Se toman muestras de sangre en varios momentos durante los experimentos por la técnica de sangrado retroorbitario. Se separa el plasma de PBMC por centrifugación y se realiza el fenotipado celular por tinción FACS. Se realiza el perfil de respuesta al anticuerpo anti-MOG humoral mediante por ELISA usando AMc específicos de subclase/isotipo (Pharmingen). Al término de cada experimento, se recogen el encéfalo, la médula espinal, los nervios ópticos y los

35 nervios ciáticos después de la perfusión.

Se usa el mismo protocolo para inducir la EAE en ratones con Sp35 inactivado y compañeros de camada. Los ratones con Sp35 inactivado muestran normalmente valores EAE inferiores (1,5), y ausencia de recidiva en comparación con el control (durante un periodo de 45 días), después compañeros de camada de tipo natural

40 (puntuación EAE 3,5).

Los animales tratados con Sp35-Fc y 1A7, 2F3 se analizarán para determinar la remielinización en comparación con el control.

- 45 La proteína MOG₁₋₁₂₅ marcada con His se expresó en *Pichia pastoris* usando un promotor inducible por doxiciclina TetO-AOX1 (M. Levesque, D. Krushinskiy y K. Strauch, manuscrito en preparación). La secuencia codificante extracelular (Gly1 a Gly125 de la proteína madura después de eliminación de la secuencia señal) de rata MOG se amplificó por PCR usando los cebadores siguientes:

5'GGGGTATCTCTCGAGAAAAGAGAGCATCATCATCATCATATGGGACAGTTC
AGAGTGATAGGG 3' (SEQ ID NO:368), y 5'TTCGCGCCGCTATTAGCCAGGGTTG
ATCCAGTAGAAGGG3' (SEQ ID NO:369).

50

EJEMPLO 16

Construcción de variante de 3B5.2

- 55 A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos para la cadena ligera variable (VL) del anticuerpo 3B5.2, las CDR están subrayadas y el sitio de glucosilación ligado a N está en negrita y con doble subrayado: QIVLTQSPAI

MSASPGEKVT MTCSSASSRVS YVHWYQQKSG TSPKRWLYDT SNLASGVPAR FGGNGSGTSY SLTISSMEAE DAATYYCQQW STNPPTFGGG TKLEIK (SEQ ID NO: 417). Para determinar si la expresión del anticuerpo 3B5.2 y/o la unión del anticuerpo a Sp35 se vieron afectadas por la eliminación del sitio de glucosilación, se construyó una variante 3B5.2. Específicamente, se mutaron las posiciones Kabat 63-68 en FR3 con la secuencia de cadena ligera

5 kappa murina y humana de consenso SGSGSG (SEQ ID NO: 418). La variable de cadena ligera 3B5.2 mutante resultante variable es la siguiente, los aminoácidos mutados están en negrita y con doble subrayado: QIVLTQSPAI MSASPGEKVT MTCSSASSRVS YVHWYQQKSG TSPKRWLYDT SNLASGVPAR FSGSGSGTSY SLTISSMEAE DAATYYCQQW STNPPTFGGG TKLEIK (SEQ ID NO: 419).

10 La capacidad del anticuerpo 3B5.2 y de la variante de anticuerpo 3B5.2 de unirse a la proteína Sp35 fueron iguales cuando se realizó la prueba. Además, basándose en datos de movilidad electroforética, parece que la variable de cadena ligera 3B5.2 está glucosilada, mientras que la variante de cadena ligera no lo está. Finalmente, los niveles de expresión de los anticuerpos en células transfectadas fueron los mismos.

15 EJEMPLO 17

Construcción de anticuerpo 1A7 humanizado

SECUENCIAS DE CADENAS LIGERAS Y PESADAS DE 1A7

20

Cadena ligera:

1 QIVLTQSPAI MSASPGEKVT MTCSSASSRVS YVHWYQQKSG
 GTSPKRWLYDT 50
 51 ESKKLASGVPA RFSSGSGSGTS YSLTISSMEA EDAATYYCQQ
WSSNFTFGS 100
 101 GTKLEIK (SEQ ID NO:283)

25 Cadena pesada:

1 QVQLVQSGPE LKKPGETVKI SCKASGVTEET NYGMNWVKQA
 PGKGLKWMGW 50
 51 INDTCEPTYT EDFQGRFAFS LETSASTVYL QFN~~N~~LKNEDTATY
 FCAREGVHF 100
 101 DYWGQGT~~T~~VT VSS (SEQ ID NO 170)

Negrita subrayado: residuos CDR de Kabat

30 Cursiva subrayado: residuos CDR de Chotia

Residuos canónicos

La numeración está de acuerdo con el esquema de Kabat

35

ANÁLISIS DE LAS REGIONES VARIABLES MURINAS

Las regiones de determinación de complementariedad (CDR) contienen los residuos que más probablemente se unirán a antígeno y deben conservarse en el anticuerpo remodelado. Las CDR se definen por la secuencia de acuerdo con Kabat *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest. 5ª edición, U.S. Dept. Health and Human Services. U.S. Govt. Printing Office. Las CDR se encuadran en clases canónicas (Chothia, C., Lesk, A.M., Tramontano, A., Levitt, M., Smith-Gill, S.J., Air, G., Sheriff, S., Padlan, E.A., Davies, D., Tulip, W.R., Colman, P.M., Spinelli, S., Alzari, P.M. y Poljak, R.J. (1989) *Nature* 342:877-883) cuando los residuos clave determinan en gran medida la conformación estructural del bucle de CDR. Estos residuos casi siempre están conservados en el

45 anticuerpo remodelado. Las CDR de la cadena pesada y ligera se clasificaron en las siguientes clases canónicas:

Cadena ligera:			Cadena pesada:		
L1:	10 residuos	Clase 1	H1:	5 residuos	Clase 1
L2:	7 residuos	Clase 1	H2:	17 residuos	Clase 2
L3:	9 residuos	Clase 1	H3:	7 residuos	Clase no canónica

ES 2 673 153 T3

Los residuos canónicos importantes para estas clases CDR se indican en la tabla 10.

TABLA 10

L1	Clase 1	2(1) 25 (A) 30(V) 33(M) 71(S)
L2	Clase 1	48 (I) 51(T) 52(S) 64(G)
L3	Clase 1	90(Q) 95(P)
H1	Clase 1	24(A), 26(G), 27(F), 29(F), 34(M), 94(R)
H2	Clase 2	52a(T) 55(G) 71(L)
H3	Clase no canónica	

5

Las cadenas ligeras y pesadas variables se compararon con las secuencias de consenso (Kabat *et al.*, 1991) y de línea germinal (Brensing-Kuppers J, Zoehner I, Thiebe R, Zachau HG. (1997). *Gene*. 191(2):173-81 y Matsuda F, Ishii K, Bourvagnet P, Kuma K, Hayashida H, Miyata T, Honjo T. (1998) *J Exp Med*. 188(11):2151-62) para subgrupos murino y humano usando el programa BLAST y bases de datos de secuencias de proteínas de blastos de línea germinal y de consenso compiladas internamente.

La cadena ligera variable es un miembro del subgrupo Kappa 6 murino con un 94 % de identidad en 109 superposiciones de aminoácidos y con origen en la línea germinal kk4 murina (100 % ID) (Véase más adelante)

15 > muk4

Consulta: 1

QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLAGVVPAR 60
20 QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLAGVVPAR

Sujeto: 1

QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLAGVVPAR 60
25

Consulta: 61 FSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNP 94 (SEQ ID NO: 451)

FSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNP (SEQ ID NO: 451)

30 Sujeto: 61 FSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNP 94 (SEQ ID NO: 451)

La cadena pesada variable es un miembro del subgrupo HVMS murino con un 55 % de identidad en 132 superposiciones de aminoácidos y con origen en la línea germinal VGK6 murina (92 % ID) (Véase más adelante)

35 > muVGK6

Consulta: 1

QVQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWKQAPGKGLKWMGWINTDTGEPTY 60
40 Q+QLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWKQAPGKGLKWMGWINT+TGEPTY

Sujeto: 1

QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWKQAPGKGLKWMGWINTETGEPTY 60
45

Consulta: 61 TEDFQGRFAFSLETSASTVYLQFNLLKKNEDTATYFC 96 (SEQ ID NO: 452)

+DF+GRFAFSLETSAST YLQ NNLKKNEDTATYFC (SEQ ID NO: 453)

50 Sujeto: 61 ADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINLLKKNEDTATYFC 96 (SEQ ID NO: 454)

La cadena ligera variable corresponde al subgrupo Kappa 3 humano con un 67 % de identidad en 109 superposiciones de aminoácidos y es la más cercana a la línea germinal L6 humana (64 % ID) (Véase más adelante)

> huL6

Consulta: 1 QIVLTQSPA IMSASPGEKVTMTCSASSSVS-YMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSK LASGVPA 59

5 +IVLTQSPA +S SPGE+ T++C AS SVS S+ WYQQK G +P+ IYD S A+G+PA

Sujeto: 1

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPA 60

10

Consulta: 60 RFSGSGSGT SYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNP 94 (SEQ ID NO: 455)

RFSGSGSGT ++LTISS+E ED A YYCQQ S+ P (SEQ ID NO: 456)

15 Sujeto: 61 RFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWP 95 (SEQ ID NO: 457)

La cadena pesada variable corresponde al subgrupo MHV1 humano con un 59 % de identidad en 129 superposiciones aa y es la más cercana a la línea germinal huVH7-81 humana (70 % ID) (Véase más adelante)

20 > huVH7-81

Consulta: 1

QVQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWINTDTGEPTY 60

25

QVQLVQSG E+K+PG +VK+SCKASGY+FT YGMNWV QAPG+GL+WMGW NT TG PTY

Sujeto: 1

QVQLVQSGHEVKQPGASVKVSKASGYSFTTYGMNWVQAPGQGLEWMGWFNNTYTGNTY 60

30

Consulta: 61 TEDFQGRFAFSLETSASTVYLQFNLLKNETATYFCAR 98 (SEQ ID NO: 458)

+ F GRF FS++TSAST YLQ ++LK ED A S+CAR (SEQ ID NO: 459)

35 Sujeto: 61 AQGFTGRFVFSMDTSASTAYLQISSLKAEDMAMYYCAR 98 (SEQ ID NO: 460)

MODELIZACIÓN DE LA ESTRUCTURA DE LAS REGIONES VARIABLES

40 Para esta humanización los autores de la invención construyeron el modelo de regiones variables P1A7 basándose en las estructuras cristalinas de anticuerpos OKT3 (PDB ID 1SY6 – usado para modelización de cadena ligera) y TE33 (PDB ID 1TET - usado para modelización de cadena pesada).

ANÁLISIS DE LAS REGIONES VARIABLES REMODELADAS

45 Los autores de la invención intentaron encontrar las secuencias de anticuerpos expresadas humanas más similares que no necesitan retromutación en las posiciones (L4, 38, 43, 44, 58, 62, 65-69, 73, 85, 98 y H2, 4, 36, 39, 43, 45, 69, 70, 74, 92) (véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. nº 6.407.213), y usarlas como marcos de anticuerpo. Los autores de la invención usaron la base de datos de secuencias de anticuerpos curadas internamente y herramientas de consulta para identificar plantillas adecuadas que tienen la máxima semejanza con las secuencias P1A7 murinas en residuos canónicos, de interfaz y de zona exterior para minimizar el número de retromutaciones. Las secuencias de línea germinal rellenas con residuos de consenso en la región FR4 se consideraron por separado. Después de haber considerado múltiples marcos, se seleccionaron las secuencias de línea germinal huL6 y VH7-81 como marcos aceptores para cadenas pesadas y ligeras respectivamente.

55 Se han diseñado tres versiones de la cadena remodelada ligera variable y tres versiones de la cadena remodelada pesada variable. La primera versión contiene el menor número de retromutaciones y la tercera versión contiene el mayor número (es decir las menos "humanizadas").

RETROMUTACIONES EN VL REMODELADAS

60

huL6

Punto E1Q Q1 hacia antígeno y el cambio de carga puede alterar la unión.

5 Presente en versión 2 y 3

L46R R46 es un residuo no habitual en la interfaz VH/VL que soporta CDR-L1 y CDR-H3. Presente en todas las versiones

10 L47W - W47 está situada en un grupo debajo de CDR-L2. Presente en versión 3 solo

158V - V58 está situada en un grupo debajo de CDR-L2. Presente en versión 3 solo

F71Y - Y71 es un residuo canónico importante para soporte de CDR-L1 y CDR-L3.

15

Presente en todas las versiones

RETROMUTACIONES EN VH REMODELADAS

20 huVH7-81

P38K K38 soporta CDR-H2. Presente en versiones 2 y 3.

E46K K46 soporta CDR-H2. Presente en versiones 2 y 3

M71L L71 es un residuo canónico que soporta CDR-H1. Presente en todas las versiones

25 A78V V78 está hipermutada a partir de la línea germinal A y soporta CDR-H1

I82F F82 es un residuo de empaquetamiento de núcleo. Presente en versión 3 solo

Y91F F91 es a residuo on VH/VL interface. Presente en versión 3 solo

DISEÑOS DE HUMANIZACIÓN PARA P1A7

30

Marco tomado de las secuencias:

Cadena ligera: huL6

Cadena pesada: huVH7-81

35 Las retromutaciones están en fuente negrita y en minúscula

Las CDR están subrayadas

>Cadena ligera variante 1

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRrLIYDTSKLGASGIPAR
 FSGSGSGTDyTLTISSLEPEDFAVYYCQWSSNPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID
 40 NO: 430)

>Cadena ligera variante 2

qIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRrLIYDTSKLGASGIPAR
 FSGSGSGTDyTLTISSLEPEDFAVYYCQWSSNPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID
 45 NO: 431)

>Cadena ligera variante 3

qIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRrwiYDTSKLGASgVPAR
 FSGSGSGTDyTLTISSLEPEDFAVYYCQWSSNPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID
 50 NO: 471)

>Pesada variante 1

QVQLVQSGHEVKQPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWPQAPGQGLEWMGWINTDTGEPTY
TEDFQGRFVFS1DTSASTvYLQISSLKAEDMAMYYCAREGVHFDYWGQGLVTVSS
(SEQ ID NO:472)

>Pesada variante 2

5 QVQLVQSGHEVKQPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWWkQAPGQGLkWMGWINTDTGEPTY
TEDFQGRFVFS1DTSASTvYLQISSLKAEDMAMYYCAREGVHFDYWGQGLVTVSS
(SEQ ID NO:432)

>Pesada variante 3

10 QVQLVQSGHEVKQPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWWkQAPGQGLkWMGWINTDTGEPTY
TEDFQGRFVFS1DTSASTvYLQfSSLKAEDMAMYfCAREGVHFDYWGQGLVTVSS
(SEQ ID NO:473)

10 SECUENCIA DE CADENA PESADA DE POLIPÉPTIDOS Y POLINUCLEÓTIDOS DE LONGITUD COMPLETA
PARA **Pesada variante 2**

15 Secuencia de ADN de cadena pesada H2 huP1A7-IgG1 (pXW465)

1 ATGGACTGGA CCTGGAGGGT CTTCTGCTTG CTGGCTGTAG
CACCAGGTGC

51 CCACTCCCAG GTCCAAGTGG TACAGTCTGG ACACGAGGTG
AAGCAGCCTG

101 GAGCATCAGT CAAGGTCTCC TGCAAGGCCT CTGGGTATAC
CTTCACAAAC

151 TATGGAATGA ACTGGGTGAA GCAGGCTCCT GGACAAGGTT
TAAAGTGGAT

201 GGGCTGGATA AACACCGACA CTGGAGAGCC AACATATACT
GAAGATTTC

251 AGGGACGGTT TGTCTTCTCT TTGGACACCT CTGCCAGCAC
TGTTTATTTG

301 CAGATCAGCA GCCTCAAAGC TGAGGACATG GCAATGTATT
ACTGTGCAAG

351 AGAGGGGGTC CACTTTGACT ACTGGGGCCA AGGGACCCTT
GTCACCGTCT

401 CCTCAGCCTC CACCAAGGGC CCATCGGTCT TCCCCCTGGC
ACCCTCCTCC

451 AAGAGCACCT CTGGGGGCAC AGCGGCCCTG GGCTGCCTGG
TCAAGGACTA

501 CTTCCCCGAA CCGGTGACGG TGTCGTGGAA CTCAGGCGCC
CTGACCAGCG

551 GCGTGCACAC CTTCCCGGCT GTCCTACAGT CCTCAGGACT
CTACTCCCTC

601 AGCAGCGTGG TGACCGTGCC CTCCAGCAGC TTGGGCACCC
AGACCTACAT

651 CTGCAACGTG AATCACAAGC CCAGCAACAC CAAGGTGGAC
AAGAAAGTTG

701 AGCCCAAATC TTGTGACAAG ACTCACACAT GCCCACCCTG
CCCAGCACCT

751 GAACTCCTGG GGGGACCGTC AGTCTTCTC TTCCCCCAA
AACCCAAGGA

801 CACCCTCATG ATCTCCCGGA CCCCTGAGGT CACATGCGTG
GTGGTGGACG

851 TGAGCCACGA AGACCCTGAG GTCAAGTTCA ACTGGTACGT
GGACGGCGTG

901 GAGGTGCATA ATGCCAAGAC AAAGCCGCGG GAGGAGCAGT
ACAACAGCAC

951 GTACCGTGTG GTCAGCGTCC TCACCGTCCT GCACCAGGAC
TGGCTGAATG

1001 GCAAGGAGTA CAAGTGCAAG GTCTCCAACA AAGCCCTCCC
AGCCCCATC

1051 GAGAAAACCA TCTCCAAAGC CAAAGGGCAG CCCCAGAAAC
CACAGGTGTA

1101 CACCCTGCCC CCATCCCGGG ATGAGCTGAC CAAGAACCAG
GTCAGCCTGA

1151 CCTGCCTGGT CAAAGGCTTC TATCCCAGCG ACATCGCCGT
GGAGTGGGAG

1201 AGCAATGGGC AGCCGGAGAA CAACTACAAG ACCACGCCTC
CCGTGTTGGA

1251 CTCCGACGGC TCCTTCTTCC TCTACAGCAA GCTCACCGTG
GACAAGAGCA

1301 GGTGGCAGCA GGGGAACGTC TTCTCATGCT CCGTGATGCA
TGAGGCTCTG

1351 CACAACCACT ACACGCAGAA GAGCCTCTCC CTGTCTCCCG GTTGA
(SEQ ID NO:461)

Secuencia de proteínas predicha de cadena pesada H2 huP1A7 (la secuencia señal está subrayada)

1 MDWTWRVFCL LAVAPGAHSQ VQLVQSGHEV KQPGASVKVS
CKASGYTFTN

51 YGMNWWKQAP GQGLKWMGWI NTDTEPTYT EDFQGRFVFS
LDTASASTVYL

101 QISSLKAEDM AMYYCAREGV HFDYWGQGTL VTVSSASTKG
PSVFPLAPSS

151 KSTSGGTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA
VLQSSGLYSL

201 SSVVTVPSSS LGTQTYICNV NHKPSNTKVD KKVEPKSCDK
THTCPPCPAP

251 ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE
VKFNWYVDGV

301 EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK
VSNKALPAPI

351 EKTISKAKGQ PREPQVYTLPSRDELTKNQ VSLTCLVKGF
YPSDIAVEWE

401 SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV
FSCSVMHEAL

451 HNHYTQKSLS LSPG* (SEQ ID NO:462)

SECUENCIA DE CADENA PESADA DE POLIPÉPTIDOS Y POLINUCLEÓTIDOS DE LONGITUD COMPLETA

PARA Ligera variante 1

Secuencia de ADN de cadena ligera kappa huP1A7 L1 (pXW480)

1 ATGGATTTTC AGGTTTCAGAT TTTCAGCTTC CTGCTAATCA
GTGCCTCAGT

51 CATAATATCC AGAGGAGAAA TTGTTCTCAC CCAGTCTCCA
GCAACCTTGT

101 CTTTATCTCC AGGGGAGAGA GCCACCTTGT CCTGCAGTGC
CAGCTCAAGT

151 GTAAGTTACA TGC ACTGGTA CCAGCAGAAG CCAGGCCAAG
CGCCAGAAG

201 ACTGATTTAT GACACATCCA AACTGGCTTC TGGAATCCCT
GCTCGCTTCA

251 GTGGCAGTGG GTCTGGGACC GATTACACTC TCACCATCAG
CAGCTTGGAG

301 CCTGAAGATT TCGCCGTTTA TTA CTGCCAG CAGTGGAGTA
GTAACCCATT

351 CACGTTCCGC CAGGGGACAA AGGTGGAAAT AAAACGTACG
GTGGCTGCAC

401 CATCTGTCTT CATCTCCCG CCATCTGATG AGCAGTTGAA
ATCTGGA ACT

451 GCCTCTGTTG TGTGCCTGCT GAATAACTTC TATCCCAGAG
AGGCCAAAGT

501 ACAGTGGAAG GTGGATAACG CCCTCCAATC GGGTAACTCC
CAGGAGAGTG

551 TCACAGAGCA GGACAGCAAG GACAGCACCT ACAGCCTCAG
CAGCACCTG

601 ACGCTGAGCA AAGCAGACTA CGAGAAACAC AAAGTCTACG
CCTGCGAAGT

651 CACCCATCAG GGCCTGAGCT CGCCCGTCAC AAAGAGCTTC
AACAGGGGAG

701 AGTGTTAG (SEQ ID NO:463)

Secuencia de proteínas predicha de cadena ligera L1 huP1A7 (la secuencia señal está subrayada)

10

1 MDFQVQIFSF LLISASVIIS RGEIVLTQSP ATLSLSPGER ATLSCSASSS
51 VSYMHWYQQK PGQAPRRLIY DTSKLAGIP ARFSGSGSGT DYTLTISSLE
101 PEDFAVYYCQ QWSSNPFTFG QGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT
151 ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK
DSTYLSSTL
201 TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC* (SEQ ID NO:464)

SECUENCIA DE CADENA PESADA DE POLIPÉPTIDOS Y POLINUCLEÓTIDOS DE LONGITUD COMPLETA
PARA **Ligera variante 2**

5

Secuencia de ADN de cadena ligera kappa huP1A7 L2 (pXW476)

1 ATGGATTTTC AGGTTTCAGAT TTTCAGCTTC CTGCTAATCA
GTGCCTCAGT
51 CATAATATCC AGAGGACAAA TTGTTCTCAC CCAGTCTCCA
GCAACCTTGT
101 CTTTATCTCC AGGGGAGAGA GCCACCTTGT CCTGCAGTGC
CAGCTCAAGT
151 GTAAGTTACA TGCACTGGTA CCAGCAGAAG CCAGGCCAAG
CGCCAGAAG
201 ACTGATTTAT GACACATCCA AACTGGCTTC TGGAATCCCT
GCTCGCTTCA
251 GTGGCAGTGG GTCTGGGACC GATTACACTC TCACCATCAG
CAGCTTGGAG
301 CCTGAAGATT TCGCCGTTTA TTA CTGCCAG CAGTGGAGTA
GTAACCCATT

351 CACGTTCTGGC CAGGGGACAA AGGTGGAAAT AAAACGTACG
GTGGCTGCAC

401 CATCTGTCTT CATCTTCCCG CCATCTGATG AGCAGTTGAA
ATCTGGAAC

451 GCCTCTGTTG TGTGCCTGCT GAATAACTTC TATCCCAGAG
AGGCCAAAGT

501 ACAGTGGAAG GTGGATAACG CCCTCCAATC GGGTAACTCC
CAGGAGAGTG

551 TCACAGAGCA GGACAGCAAG GACAGCACCT ACAGCCTCAG
CAGCACCTG

601 ACGCTGAGCA AAGCAGACTA CGAGAAACAC AAAGTCTACG
CCTGCGAAGT

651 CACCCATCAG GGCCTGAGCT CGCCCGTCAC AAAGAGCTTC
AACAGGGGAG

701 AGTGTTAG (SEQ ID NO:465)

Secuencia de proteínas predicha de cadena ligera huP1A7 L2 (la secuencia señal está subrayada)

1 MDFQVQIFSF LLISASVIIS RGQIVLTQSP ATLSLSPGER ATLSCSASSS

51 VSYMHWYQK PGQAPRRLIY DTSKLAGIP ARFSGSGSGT DYTLTISSLE

101 PEDFAVYYCQ QWSSNPFTFG QGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT

151 ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK
DSTYLSSTL

5 201 TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC* (SEQ ID NOS:466)

Secuencia de polipéptidos y polinucleótidos de cadena pesada y ligera de un anticuerpo 1A7 quimérico murino y humano siguiente:

10 **Secuencia de ADN de cadena ligera kappa chP1A7 (pEAG2110)**

1 ATGGATTTTC AGGTGCAGAT TTTCAGCTTC CTGCTAATCA
GTGCCTCAGT

51 CATAATATCC AGAGGACAAA TTGTTCTCAC CCAGTCTCCA
GCAATCATGT

101 CTGCATCTCC AGGGGAGAAG GTCACCATGA CCTGCAGTGC
CAGCTCAAGT

151 GTAAGTTACA TGCACTGGTA CCAGCAGAAG TCAGGCACCT
CCCCAAAAG

201 ATGGATTTAT GACACATCCA AACTGGCTTC TGGAGTCCCT
GCTCGCTTCA

251 GTGGCAGTGG GTCTGGGACC TCTTACTCTC TCACAATCAG
CAGCATGGAG

301 GCTGAAGATG CTGCCACTTA TTAGTCCAG CAGTGGAGTA
GTAACCCATT

351 CACGTTCCGC TCGGGGACAA AGTTGGAAAT AAAACGTACG
GTGGCTGCAC

401 CATCTGTCTT CATCTTCCCG CCATCTGATG AGCAGTTGAA
ATCTGGAAGT

451 GCCTCTGTTG TGTGCCTGCT GAATAACTTC TATCCCAGAG
AGGCCAAAAGT

501 ACAGTGGAAG GTGGATAACG CCCTCCAATC GGGTAACTCC
CAGGAGAGTG

551 TCACAGAGCA GGACAGCAAG GACAGCACCT ACAGCCTCAG
CAGCACCCCTG

601 ACGCTGAGCA AAGCAGACTA CGAGAAACAC AAAGTCTACG
CCTGCGAAGT

651 CACCCATCAG GGCCTGAGCT CGCCCGTCAC AAAGAGCTTC
AACAGGGGAG

701 AGTGTTAG (SEQ ID NO:467)

Secuencia de proteínas predicha de cadena ligera chP1A7 (la secuencia señal está subrayada)

1 MDFQVQIFSF LLISASVIIS RGQIVLTQSP AIMSASPGEK VTMTCSASSS

51 VSYMHWYQK SGTSPKRWIY DTSKLAGVP ARFSGSGSGT
SYSLTISSME

101 AEDAATYYCQ QWSSNPFTFG SGKLEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT

151 ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK
5 DSTYLSSTL

201 TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC* (SEQ ID NO:468)

Secuencia de ADN de cadena pesada chP1A7 hulG1 (pEAG2112)

1 ATGGACTGGA CCTGGAGGGT CTTCTGCTTG CTGGCTGTAG
CACCAGGTGC

51 CCACTCCCAG GTCCAAGTGG TACAGTCTGG ACCTGAGCTG
AAGAAGCCTG

101 GAGAGACAGT CAAGATCTCC TGCAAGGCCT CTGGGTATAC
CTTCACAAAC

151 TATGGAATGA ACTGGGTGAA GCAGGCTCCA GGAAAGGGTT
TAAAGTGGAT

201 GGGCTGGATA AACACCGACA CTGGAGAGCC AACATATACT
GAAGATTTC

251 AGGGACGGTT TGCCTTCTCT TTGGAAACCT CTGCCAGCAC
TGTTTATTTG

301 CAGTTCAACA ACCTCAAAAA TGAGGACACG GCTACATATT
TCTGTGCAAG

351 AGAGGGGGTC CACTTTGACT ACTGGGGCCA AGGGACCACG
GTCACCGTCT

401 CCTCAGCCTC CACCAAGGGC CCATCGGTCT TCCCCTGGC
ACCCTCCTCC

451 AAGAGCACCT CTGGGGGCAC AGCGGCCCTG GGCTGCCTGG
TCAAGGACTA

501 CTTCCCCGAA CCGGTGACGG TGTCGTGGAA CTCAGGCGCC
CTGACCAGCG

551 GCGTGCACAC CTTCCCGGCT GTCCTACAGT CCTCAGGACT
CTACTCCCTC

601 AGCAGCGTGG TGACCGTGCC CTCCAGCAGC TTGGGCACCC
AGACCTACAT

651 CTGCAACGTG AATCACAAGC CCAGCAACAC CAAGGTGGAC
AAGAAAGTTG

701 AGCCCAAATC TTGTGACAAG ACTCACACAT GCCCACCGTG
CCCAGCACCT

751 GAACTCCTGG GGGGACCGTC AGTCTTCCTC TTCCCCCAA
AACCCAAGGA

801 CACCCTCATG ATCTCCCGGA CCCCTGAGGT CACATGCGTG
GTGGTGGACG

851 TGAGCCACGA AGACCCTGAG GTCAAGTTCA ACTGGTACGT
GGACGGCGTG

901 GAGGTGCATA ATGCCAAGAC AAAGCCGCGG GAGGAGCAGT
ACAACAGCAC

951 GTACCGTGTG GTCAGCGTCC TCACCGTCCT GCACCAGGAC
TGGCTGAATG

1001 GCAAGGAGTA CAAGTGCAAG GTCTCCAACA AAGCCCTCCC
AGCCCCATC

1051 GAGAAAACCA TCTCCAAAGC CAAAGGGCAG CCCCAGAGAAC
CACAGGTGTA

1101 CACCCTGCCC CCATCCCGGG ATGAGCTGAC CAAGAACCAG
GTCAGCCTGA

1151 CCTGCCTGGT CAAAGGCTTC TATCCCAGCG ACATCGCCGT
GGAGTGGGAG

1201 AGCAATGGGC AGCCGGAGAA CAACTACAAG ACCACGCCTC
CCGTGTTGGA

1251 CTCCGACGGC TCCTTCTTCC TCTACAGCAA GCTCACCGTG
GACAAGAGCA

1301 GGTGGCAGCA GGGGAACGTC TTCTCATGCT CCGTGATGCA
TGAGGCTCTG

1351 CACAACCACT ACACGCAGAA GAGCCTCTCC CTGTCTCCCG GTTGA
(SEQ ID NO:469)

Secuencia de proteínas predicha de cadena pesada chP1A7 (la **secuencia señal está subrayada**)

1 MDWTWRVFCL LAVAPGAHSQ VQLVQSGPEL KKPGETVKIS
CKASGYTFTN

5

51 YGMNWVKQAP GKGLKWMGWI NTDGTEPTYT EDFQGRFAFS
LETSASTVYL

101 QFNNLKNEDT ATYFCAREGV HFDYWGQGTT VTVSSASTKG
PSVFPLAPSS

151 KSTSGGTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA
VLQSSGLYSL

201 SSVVTVPSSS LGTQTYICNV NHKPSNTKVD KKVEPKSCDK
THTCPPCPAP

251 ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE
VKFNWYVDGV

301 EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK
VSNKALPAPI

351 EKTISKAKGQ PREPQVYTLPSRDELTKNQ VSLTCLVKGF
YPSDIAVEWE

401 SNGQPENNYK TPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV
FSCVMHEAL

451 HNHYTQKSLSLSPG* (SEQ ID NO:470)

EJEMPLO 18

5 Rediseño de Li33Ig2 para reducir la función efectora, la glucación y la agregación

Se realizaron varias mutaciones en Li33 para reducir potencialmente la función efectora, la glucación y la agregación. Se determinó el efecto de cada una de estas mutaciones en la expresión de proteínas, la solubilidad, la actividad de anticuerpos en el ensayo de cocultivo de oligodendrocitos-GRD y la glucación o la unión a CD32. Los

10 resultados se resumen a continuación en la tabla 11.

TABLA 11: REDISEÑO DE LI33IG2

Función efectora	Construcción expresada	Solubilidad (mg/mL)	CI50 unión CD32 (µg/mL)	Ensayo de actividad (cocultivo)
Li33Ig2wt	S	>20	4,3	+
Li33Ig2 agly	S	0,3	25	+
Li33Ig2 Rinat	S	>5	9.5	+
Li33Ig2 PDL	S	5.8	>100	+
Li33Ig2 Alexion	En curso	ND	ND	ND
Glucación Co	nstrucción expresada	Solubilidad (mg/mL)	% Glucación	Ensayo de actividad (cocultivo)
Li33wt	S	>20	25	+
Li33Ig2 PDL	S	5.8	15(5)	+
Li33Ig2 PDLW94G	S	ND	>2	-
Li33Ig2 PDLW94V	S	ND	<2	+
Li33Ig2 PDLW94Q	S	ND	<2	-

Li33lg2 PDLW93N	S	ND	<2	-
Li33lg2 PDLK93R	S	0,4	<2	+
Agregación Cons	trucción expresada	Solubilidad (mg/mL)	% glucación	Ensayo de actividad (cocultivo)
Li33lg1a94V 157P	S	ND	ND	+
Li33lg1a94V 157S	S	ND	ND	+
Li33lg1a94V 157T	S	ND	ND	-
Li33lg1a94V 157V	S	ND	ND	+
Li33lg2PDL94V 157S	S	ND	ND	+
Li33lg2PDL94V 157A	S	ND	ND	+
Li33lg2PDL94V W103Q	S	ND	ND	-
Li33lg2PDL94V W103A	S	ND	ND	-
Li33lg2PDL94V 103Q57S	S	ND	<2	+
Li33lg2PDL94V 103Q57A	S	ND	<2	+

EJEMPLO 19

5 Construcción de una variante de Li81

El anticuerpo Li81 es una versión de afinidad madurada del anticuerpo Li13. Se creó una versión aglicosilada del anticuerpo Li81 cambiando un único aminoácido en la secuencia de cadena pesada Li81. A continuación se muestra la secuencia de aminoácidos para la cadena pesada variable (VH) de la variante aglicosilada.

10

MDWTWRVFCLLAVAPGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
FTFS**AYEMK**WVRQAPGKGLEWVSV**IGP**SGGFTFYADSVKGRFTISR
 D NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATEGDNDAFDIWGQGTITVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
 VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
 VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS**A**YRVVSVLTVL
 HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
 LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF
 LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID
 NO: 474)

La secuencia delantera (los primeros 19 aminoácidos), que no estará presente en la proteína madura, se muestra en negrita, y las CDR están subrayadas. El único cambio de aminoácido comparado con la secuencia variable de
 15 cadena pesada Li81 (SEQ ID NO: 433) se muestra en negrita y con doble subrayado. A continuación, se muestra la secuencia de nucleótidos para la cadena pesada variable (VH) de la variante aglicosilada.

GAAGTACAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTACGCCTGGTG
 GTTCTTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTCCGGATTCACTTTCTCTGCT
 ACCGAGATGAAGTGGGTTCCGCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGT

GGGTTTCTGTTATCGGTCCTTCTGGTGGCTTTACTTTTTATGCTGAC
TCCGTTAAAGGTTCGCTTCACTATCTCTAGAGACAACCTCTAAGAATA
CTCTCTACTTGCAGATGAACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGT
GTATTACTGTGCAACAGAGGGTGATAATGATGCTTTTGATATCTGG
GGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCAAGCGCCTCCACCAAGGGC
CCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGG
GCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC
GGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCA
CACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGC
AGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTAC
ATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG
AAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAGACTCACACATGCCACCCGT
GCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCC
CCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC
ACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG
TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA
AAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCGCGTACCGTGTGGTCAGC
GTCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC
AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAA
ACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTAC
ACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGC
CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGG
AGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACG
CCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCT
CACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG
CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAG
CCTCTCCCTGTCTCCCGGTTGAGGATCCCTGCCCCG (SEQ ID
NO:450).

LISTADO DE SECUENCIAS

5	<110> Biogen Idec MA Inc. <120> Anticuerpos SP35 y uso de estos <130> P33659EP-PCT <140> EP08724452.1 <141> 09/01/2008 <150> US 60/879,324		
10	<151> 09/01/2007 <160> 474 <170> PatentIn versión 3.3 <210> 1 <211> 1845		
15	<212> ADN <213> Homo sapiens <400> 1		
	atgctggcgg ggggcgtgag gagcatgccc agccccctcc tggcctgctg gcagcccatc		60
	ctccctgctgg tgctgggctc agtgctgtca ggctcggcca cgggctgccc gccccgctgc		120
	gagtgtctccg cccaggaccg cgctgtgctg tgccaccgca agcgctttgt ggcagtcccc		180
	gagggcatcc ccaccgagac ggcctgctg gacctaggca agaaccgcat caaaacgctc		240
	aaccaggacg agttcgccag cttcccgcac ctggaggagc tggagctcaa cgagaacatc		300
	gtgagcgccg tggagcccgg cgccttcaac aacctttca acctccggac gctgggtctc		360
	cgcagcaacc gcctgaagct catcccgcta ggctcttca ctggcctcag caacctgacc		420
	aagctggaca tcagcgagaa caagattgtt atcctgctgg actacatgtt tcaggacctg		480
	tacaacctca agtcaactga ggttggcgac aatgacctcg tctacatctc tcaccgccc		540
	ttcagcggcc tcaacagcct ggagcagctg acgctggaga aatgcaacct gacctccatc		600
	cccaccgagg cgctgtccca cctgcacggc ctcatcgctc tggagctccg gcacctcaac		660
	atcaatgcca tccgggacta ctccctcaag aggctctacc gactcaaggt cttggagatc		720
	tcccactggc cctacttggg caccatgaca cccaactgcc tctacggcct caacctgacg		780
	tccctgtcca tcacacactg caatctgacc gctgtgccct acctggccgt ccgccaccta		840
	gtctatctcc gcttccctcaa cctctcctac aaccccatca gcaccattga gggctccatg		900
	ttgcatgagc tgctccggct gcaggagatc cagctgggtg gcgggcagct ggccgtggtg		960
	gagccctatg ccttcgcccg cctcaactac ctgcgcgtgc tcaatgtctc tggcaaccag		1020
	ctgaccacac tggaggaatc agtcttccac tcggtgggca acctggagac actcatcctg		1080
	gactccaacc cgctggcctg cgactgtcgg ctccctgtggg tgttccggcg ccgctggcgg		1140
	ctcaacttca accggcagca gccacgtgc gccacgccc agtttgtcca gggcaaggag		1200
20	ttcaaggact tcctgatgt gctactgccc aactacttca cctgccgccc cgcccgcac		1260

ES 2 673 153 T3

cgggaccgca aggccagca ggtgttgtg gacgaggcc acacggtgca gtttgtgtgc 1320
 cgggccgatg gcgaccgcc gcccgccatc ctctggctct caccgcgaaa gcacctggtc 1380
 tcagccaaga gcaatggcg gctcacagtc ttcctgatg gcacgctgga ggtgcgctac 1440
 gcccaggtac aggacaacgg cacgtacctg tgcacgctg ccaacgcggg cggcaacgac 1500
 tccatgcccg cccacctgca tgtgcgcagc tactcgcccg actggcccca tcagcccaac 1560
 aagaccttg ctttcatctc caaccagccg ggcgaggag aggccaacag caccgcgcc 1620
 actgtgcctt tccccttga catcaagacc ctcatcatcg ccaccacat gggcttcatc 1680
 tcttctctgg gcgtcgtct cttctgctg gtgtgtgtt ttctctggag ccggggcaag 1740
 ggcaacacaa agcacaacat cgagatcgag tatgtgccc gaaagtcgga cgcaggcatc 1800
 agctccgccg acgcgccccg caagttcaac atgaagatga tatga 1845

<210> 2

<211> 614

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Leu Ala Gly Gly Val Arg Ser Met Pro Ser Pro Leu Leu Ala Cys
 1 5 10 15

Trp Gln Pro Ile Leu Leu Leu Val Leu Gly Ser Val Leu Ser Gly Ser
 20 25 30

Ala Thr Gly Cys Pro Pro Arg Cys Glu Cys Ser Ala Gln Asp Arg Ala
 35 40 45

Val Leu Cys His Arg Lys Arg Phe Val Ala Val Pro Glu Gly Ile Pro
 50 55 60

Thr Glu Thr Arg Leu Leu Asp Leu Gly Lys Asn Arg Ile Lys Thr Leu
 65 70 75 80

Asn Gln Asp Glu Phe Ala Ser Phe Pro His Leu Glu Glu Leu Glu Leu
 85 90 95

Asn Glu Asn Ile Val Ser Ala Val Glu Pro Gly Ala Phe Asn Asn Leu
 100 105 110

Phe Asn Leu Arg Thr Leu Gly Leu Arg Ser Asn Arg Leu Lys Leu Ile
 115 120 125

Pro Leu Gly Val Phe Thr Gly Leu Ser Asn Leu Thr Lys Leu Asp Ile
 130 135 140

5

ES 2 673 153 T3

Ser Glu Asn Lys Ile Val Ile Leu Leu Asp Tyr Met Phe Gln Asp Leu
145 150 155 160

Tyr Asn Leu Lys Ser Leu Glu Val Gly Asp Asn Asp Leu Val Tyr Ile
165 170 175

Ser His Arg Ala Phe Ser Gly Leu Asn Ser Leu Glu Gln Leu Thr Leu
180 185 190

Glu Lys Cys Asn Leu Thr Ser Ile Pro Thr Glu Ala Leu Ser His Leu
195 200 205

His Gly Leu Ile Val Leu Arg Leu Arg His Leu Asn Ile Asn Ala Ile
210 215 220

Arg Asp Tyr Ser Phe Lys Arg Leu Tyr Arg Leu Lys Val Leu Glu Ile
225 230 235 240

Ser His Trp Pro Tyr Leu Asp Thr Met Thr Pro Asn Cys Leu Tyr Gly
245 250 255

Leu Asn Leu Thr Ser Leu Ser Ile Thr His Cys Asn Leu Thr Ala Val
260 265 270

Pro Tyr Leu Ala Val Arg His Leu Val Tyr Leu Arg Phe Leu Asn Leu
275 280 285

Ser Tyr Asn Pro Ile Ser Thr Ile Glu Gly Ser Met Leu His Glu Leu
290 295 300

Leu Arg Leu Gln Glu Ile Gln Leu Val Gly Gly Gln Leu Ala Val Val
305 310 315 320

Glu Pro Tyr Ala Phe Arg Gly Leu Asn Tyr Leu Arg Val Leu Asn Val
325 330 335

Ser Gly Asn Gln Leu Thr Thr Leu Glu Glu Ser Val Phe His Ser Val
340 345 350

Gly Asn Leu Glu Thr Leu Ile Leu Asp Ser Asn Pro Leu Ala Cys Asp
355 360 365

Cys Arg Leu Leu Trp Val Phe Arg Arg Arg Trp Arg Leu Asn Phe Asn
370 375 380

Arg Gln Gln Pro Thr Cys Ala Thr Pro Glu Phe Val Gln Gly Lys Glu
385 390 395 400

Phe Lys Asp Phe Pro Asp Val Leu Leu Pro Asn Tyr Phe Thr Cys Arg

ES 2 673 153 T3

				405						410						415
Arg	Ala	Arg	Ile	Arg	Asp	Arg	Lys	Ala	Gln	Gln	Val	Phe	Val	Asp	Glu	
			420					425					430			
Gly	His	Thr	Val	Gln	Phe	Val	Cys	Arg	Ala	Asp	Gly	Asp	Pro	Pro	Pro	
		435					440					445				
Ala	Ile	Leu	Trp	Leu	Ser	Pro	Arg	Lys	His	Leu	Val	Ser	Ala	Lys	Ser	
	450					455					460					
Asn	Gly	Arg	Leu	Thr	Val	Phe	Pro	Asp	Gly	Thr	Leu	Glu	Val	Arg	Tyr	
465					470					475					480	
Ala	Gln	Val	Gln	Asp	Asn	Gly	Thr	Tyr	Leu	Cys	Ile	Ala	Ala	Asn	Ala	
				485					490					495		
Gly	Gly	Asn	Asp	Ser	Met	Pro	Ala	His	Leu	His	Val	Arg	Ser	Tyr	Ser	
			500					505					510			
Pro	Asp	Trp	Pro	His	Gln	Pro	Asn	Lys	Thr	Phe	Ala	Phe	Ile	Ser	Asn	
		515					520					525				
Gln	Pro	Gly	Glu	Gly	Glu	Ala	Asn	Ser	Thr	Arg	Ala	Thr	Val	Pro	Phe	
	530					535					540					
Pro	Phe	Asp	Ile	Lys	Thr	Leu	Ile	Ile	Ala	Thr	Thr	Met	Gly	Phe	Ile	
545					550					555					560	
Ser	Phe	Leu	Gly	Val	Val	Leu	Phe	Cys	Leu	Val	Leu	Leu	Phe	Leu	Trp	
				565					570						575	
Ser	Arg	Gly	Lys	Gly	Asn	Thr	Lys	His	Asn	Ile	Glu	Ile	Glu	Tyr	Val	
			580					585					590			
Pro	Arg	Lys	Ser	Asp	Ala	Gly	Ile	Ser	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Arg	Lys	
		595					600					605				

Phe Asn Met Lys Met Ile
 610
 <210> 3
 <211> 6
 <212> PRT
 5 <213> Homo sapiens
 <400> 3
 Met Gln Val Ser Lys Arg
 1 5
 <210> 4
 <211> 29
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

ES 2 673 153 T3

<223> Cebador sintético utilizado para determinar la cadena ligera de P1E11.3B7
 <400> 4
 gcgtctagaa ctggatggtg ggagatgga 29
 <210> 5
 5 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li10 que codifica VH-CDR1
 10 <400> 5
 acttacccta tggtt 15
 <210> 6
 <211> 5
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li10 que codifica VH-CDR1
 <400> 6
Thr Tyr Pro Met Val
 1 5
 20 <210> 7
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li10 que codifica VH-CRD2
 <400> 7
 tggatcggtc ctctggtgg cgttactgct tatgctgact ccgtaaagg t 51
 <210> 8
 <211> 17
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li10 que codifica VH-CDR2
 <400> 8
Trp Ile Gly Pro Ser Gly Gly Val Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 35 1 5 10 15

Gly
 <210> 9
 <211> 33
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li10 que codifica VH-CDR3
 <400> 9
 45 ccctatagca gtggctggtg ggactcgcg ctc 33
 <210> 10
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li10 que codifica VH-CDR3
 <400> 10
Pro Tyr Ser Ser Gly Trp Trp Asp Phe Asp Leu
 1 5 10
 <210> 11
 55 <211> 15
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li07 que codifica VH-CDR1
 <400> 11
 5 atgtacttta tgggt 15
 <210> 12
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li07 que codifica VH-CDR1
 <400> 12
Met Tyr Phe Met Gly
 1 5
 <210> 13
 15 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li07 que codifica VH-CDR2
 20 <400> 13
 tctatctctc cttctcgggtg ctttacttct tatgctgact ccgttaaagg t 51
 <210> 14
 <211> 17
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li07 que codifica VH-CDR2
 <400> 14
Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gly Phe Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

 Gly
 30 <210> 15
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li07 que codifica VH-CDR3
 <400> 15
 gatcgcatg ctttgat c 21
 <210> 16
 <211> 7
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li07 que codifica VH-CDR3
 <400> 16
Asp Arg His Ala Phe Asp Ile
 45 1 5
 <210> 17
 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li05 que codifica VH-CDR1
 <400> 17
 cttacgctat ggg t 14
 <210> 18

ES 2 673 153 T3

<211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li05 que codifica VH-CDR1
 <400> 18
Ala Tyr Ala Met Gly
 1 5
 <210> 19
 <211> 51
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li05 que codifica VH-CDR2
 <400> 19
 15 tctatcgttt cttctgggg ctatactgat tatgctgact ccgttaaagg t 51
 <210> 20
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li05 que codifica VH-CDR2
 <400> 20
Ser Ile Val Ser Ser Gly Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly
 <210> 21
 25 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li05 que codifica VH-CDR3
 <400> 21
 30 gagggtgacc ataatgctt tgatatt 27
 <210> 22
 <211> 9
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li05 que codifica VH-CDR3
 <400> 22
Glu Gly Asp His Asn Ala Phe Asp Ile
 1 5
 40 <210> 23
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li11 que codifica VH-CDR1
 <400> 23
 tcttacgcta tgat 15
 <210> 24
 <211> 5
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li11 que codifica VH-CDR1
 <400> 24

ES 2 673 153 T3

Ser Tyr Ala Met Tyr
1 5
 5 <210> 25
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li11 que codifica VH-CDR2
 <400> 25
 tctatctcta cttctggtgg ctatactggt tatgctgact ccgtaaagg t 51
 10 <210> 26
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li11 que codifica VH-CDR2
 <400> 26
Ser Ile Ser Thr Ser Gly Gly Tyr Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly
 20 <210> 27
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li11 que codifica VH-CDR3
 <400> 27
 25 gataccagcg ataatgacta ctactacatg gacgtc 36
 <210> 28
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li11 que codifica VH-CDR3
 <400> 28
Asp Thr Ser Asp Asn Asp Tyr Tyr Tyr Met Asp Val
1 5 10
 35 <210> 29
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li01 que codifica VH-CDR1
 <400> 29
 40 aagtaccaga tgact 15
 <210> 30
 <211> 5
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li01 que codifica VH-CDR1
 <400> 30
Lys Tyr Gln Met Thr
1 5
 50 <210> 31
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

ES 2 673 153 T3

<223> Secuencia sintética de anticuerpo Li01 que codifica VH-CDR2
<400> 31
tctatctatc cttctggg caatactgtt tatgctgact ccgtaaagg t 51
5 <210> 32
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
10 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li01 que codifica VH-CDR2
<400> 32
Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Asn Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly
15 <210> 33
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
20 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li01 que codifica VH-CDR3
<400> 33
gggactacag aggcagtctt tgactac 27
<210> 34
<211> 9
<212> PRT
25 <213> Secuencia artificial
<220>
<223> Secuencia sintética de anticuerpo Li01 que codifica VH-CDR3
<400> 34
Gly Thr Thr Glu Ala Val Phe Asp Tyr
1 5
30 <210> 35
<211> 15
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
35 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li12 que codifica VH-CDR1
<400> 35
cagtacaata tgttt 15
<210> 36
<211> 5
40 <212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Secuencia sintética de anticuerpo Li12 que codifica VH-CDR1
<400> 36
Gln Tyr Asn Met Phe
45 1 5
<210> 37
<211> 51
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
50 <220>
<223> Secuencia sintética de anticuerpo Li12 que codifica VH-CDR2
<400> 37
cgtatctctt cttctggg catgactatg tatgctgact ccgtaaagg t 51
<210> 38
55 <211> 17

ES 2 673 153 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li12 que codifica VH-CDR2
 <400> 38
 5 Arg Ile Ser Ser Ser Gly Gly Met Thr Met Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

 Gly
 <210> 39
 <211> 69
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li12 que codifica VH-CDR3
 <400> 39
 gaagcggttac ggccttattg tagtggtggt agctgctact ccgactacta ctactacggt 60

 atggacgtc 69
 15 <210> 40
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li12 que codifica VH-CDR3
 <400> 40
 Glu Ala Leu Arg Pro Tyr Cys Ser Gly Gly Ser Cys Tyr Ser Asp Tyr
 1 5 10 15

 Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 20
 <210> 41
 <211> 15
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li06 que codifica VH-CDR1
 <400> 41
 30 gactacccta tggat 15
 <210> 42
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li06 que codifica VH-CDR1
 <400> 42
 Glu Tyr Pro Met Asp
 1 5
 <210> 43
 40 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li06 que codifica VH-CDR2
 <400> 43
 45 tctatctatt cttctggtgg ctctactggt tatgctgact ccattaaagg t 51
 <210> 44
 <211> 17
 <212> PRT

ES 2 673 153 T3

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li06 que codifica VH-CDR2
 <400> 44
Ser Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ser Thr Val Tyr Ala Asp Ser Ile Lys
1 5 10 15

5
 Gly
 <210> 45
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li06 que codifica VH-CDR3
 <400> 45
 gagggtgact ctgatgcttt tgatatt 27
 <210> 46

15
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

20
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li06 que codifica VH-CDR3
 <400> 46
Glu Gly Asp Ser Asp Ala Phe Asp Ile
1 5
 <210> 47
 <211> 15
 <212> ADN

25
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li08 que codifica VH-CDR1
 <400> 47
 cattacgaga tggtt 15

30
 <210> 48
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

35
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li08 que codifica VH-CDR1
 <400> 48
His Tyr Glu Met Val
1 5
 <210> 49
 <211> 51

40
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

45
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li08 que codifica VH-CDR2
 <400> 49
 tctatccggtt cttctgggtgg cgctactaag tatgctgact cggtaaagg t 51
 <210> 50
 <211> 17
 <212> PRT

50
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li08 que codifica VH-CDR2
 <400> 50

ES 2 673 153 T3

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

Gly

<210> 51

<211> 27

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de anticuerpo Li08 que codifica VH-CDR3

<400> 51

gagtcgccag acgactactt tgactac 27

10 <210> 52

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li08 que codifica VH-CDR3

<400> 52

Glu Ser Pro Asp Asp Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 53

<211> 15

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de anticuerpo Li03 que codifica VH-CDR1

<400> 53

25 cagtacccta tggag 15

<210> 54

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Secuencia sintética de anticuerpo Li03 que codifica VH-CDR1

<400> 54

Gln Tyr Pro Met Glu

1 5

<210> 55

<211> 51

35 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de anticuerpo Li03 que codifica VH-CDR2

<400> 55

ggtatctatc ctctctgtgg ctctactgtt tatgctgact ccgtaaagg t 51

<210> 56

<211> 17

<212> PRT

45 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de anticuerpo Li03 que codifica VH-CDR2

<400> 56

Gly Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ser Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 57

<211> 30

50

ES 2 673 153 T3

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li03 que codifica VH-CDR3
 <400> 57
 5 gcggggcagt ggctggggga cttgactac 30
 <210> 58
 <211> 10
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li03 que codifica VH-CDR3
 <400> 58
 Ala Gly Gln Trp Leu Gly Asp Phe Asp Tyr
 1 5 10
 15 <210> 59
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li09 que codifica VH-CDR1
 <400> 59
 atgtactcta tgggt 15
 <210> 60
 <211> 5
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li09 que codifica VH-CDR1
 <400> 60
 30 Met Tyr Ser Met Val
 1 5
 <210> 61
 <211> 51
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li09 que codifica VH-CDR2
 <400> 61
 40 tatactctc ctctgggtg caagactatg tatgctgact ccgtaaagg t 51
 <210> 62
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li09 que codifica VH-CDR2
 <400> 62
 Tyr Ile Ser Pro Ser Gly Gly Lys Thr Met Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly
 50 <210> 63
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li09 que codifica VH-CDR3
 55 <400> 63

ES 2 673 153 T3

gattcgaagac gccgggtatta cgatttttgg agtgggtatc acaactacta ctactactac 60

atggacgtc 69

<210> 64
 <211> 23
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li09 que codifica VH-CDR3
 <400> 64
 Asp Ser Arg Arg Arg Tyr Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr His Asn Tyr
 1 5 10 15

Tyr Tyr Tyr Tyr Met Asp Val
 20

10 <210> 65
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

15 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li04 que codifica VH-CDR1
 <400> 65
 cgttacaata tgggt 15
 <210> 66
 <211> 5

20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li04 que codifica VH-CDR1
 <400> 66
 Arg Tyr Asn Met Gly
 25 1 5
 <210> 67
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li04 que codifica VH-CDR2
 <400> 67
 gttatctatc ctctgggtgg cgggtactcat tatgctgact ccgtaaagg t 51
 <210> 68
 <211> 17

35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li04 que codifica VH-CDR2
 <400> 68
 Val Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Gly Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 40 1 5 10 15

Gly
 <210> 69
 <211> 27
 <212> ADN

45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li04 que codifica VH-CDR3
 <400> 69
 tctatagcag atgatgcttt tgatattc 27

ES 2 673 153 T3

<210> 70
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li04 que codifica VH-CDR3
 <400> 70
Ser Ile Ala Asp Asp Ala Phe Asp Ile
1 5
 10 <210> 71
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li02 que codifica VH-CDR1
 15 <400> 71
 acttacgaga tgatt 15
 <210> 72
 <211> 5
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li02 que codifica VH-CDR1
 <400> 72
Thr Tyr Glu Met Ile
1 5
 25 <210> 73
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li02 que codifica VH-CDR2
 <400> 73
 tctatcggtc cttctggtgg ccttacttgg tatgctgact ccgtaaa 48
 <210> 74
 <211> 17
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li02 que codifica VH-CDR2
 <400> 74
Ser Ile Gly Pro Ser Gly Gly Leu Thr Trp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
 40 **Gly**
 <210> 75
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li02 que codifica VH-CDR3
 <400> 75
 atgtattact gtgtacggat tgatgatagt agtgggtggg cttttgatat c 51
 <210> 76
 50 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li02 que codifica VH-CDR3

ES 2 673 153 T3

<400> 76
Met Tyr Tyr Cys Val Arg Ile Asp Asp Ser Ser Gly Trp Ala Phe Asp
 1 5 10 15

Ile
 <210> 77
 <211> 5
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 1A7 que codifica VH-CDR1
 <400> 77
Asn Tyr Gly Met Asn
 1 5
 <210> 78
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 1A7 que codifica VH-CDR2
 <400> 78
Trp Ile Asn Thr Asp Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Thr Glu Asp Phe Gln
 1 5 10 15

Gly
 20 <210> 79
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 1A7 que codifica VH-CDR3
 <400> 79
Glu Gly Val His Phe Asp Tyr
 1 5
 <210> 80
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 2F3 que codifica VH-CDR1
 35 <400> 80
Phe Ser Asp Ala Trp Leu Asp
 1 5
 <210> 81
 <211> 19
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 2F3 que codifica VH-CDR2
 <400> 81
Glu Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn His Ala Thr Asn Tyr Ala Glu Ser
 1 5 10 15

Val Lys Gly
 45 <210> 82
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

ES 2 673 153 T3

<220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 2F3 que codifica VH-CDR3
 <400> 82
 Ser Phe Ala Tyr
 1
 5 <210> 83
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3P1D10.2C3 o 3P1E11.3B7 que codifica VH-CDR1
 <400> 83
 Ser Ser Trp Thr Gln
 1 5
 <210> 84
 <211> 17
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3P1D10.2C3 o 3P1E11.3B7 que codifica VH-CDR2
 <400> 84
 Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 20 Gly
 <210> 85
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3P1D10.2C3 o 3P1E11.3B7 que codifica VH-CDR3
 <400> 85
 His Asn Ser Tyr Gly Met Asp Tyr
 1 5
 <210> 86
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li10 que codifica VL-CDR1
 35 <400> 86
 cgggcgagtc aggtattgg caactggta gcc 33
 <210> 87
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li10 que codifica VL-CDR1
 <400> 87
 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Gly Asn Trp Leu Ala
 1 5 10
 45 <210> 88
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 50 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li10 que codifica VL-CDR2
 <400> 88
 gctgcatcca gttggaaag t 21
 <210> 89

<211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li10 que codifica VL-CDR2
 <400> 89
Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser
 1 5
 <210> 90
 <211> 27
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li10 que codifica VL-CDR3
 <400> 90
 15 caacaggctc agactttccc gctcacc 27
 <210> 91
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li10 que codifica VL-CDR3
 <400> 91
Gln Gln Ala Gln Thr Phe Pro Leu Thr
 1 5
 <210> 92
 25 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li07 que codifica VL-CDR1
 30 <400> 92
 tctggagatc agttgggtga caaacatgtg gct 33
 <210> 93
 <211> 11
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li07 que codifica VL-CDR1
 <400> 93
Ser Gly Asp Gln Leu Gly Asp Lys His Val Ala
 1 5 10
 40 <210> 94
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li07 que codifica VL-CDR2
 <400> 94
 ctagacatta agaggcccgc a 21
 <210> 95
 <211> 7
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li07 que codifica VL-CDR2
 <400> 95
Leu Asp Ile Lys Arg Pro Ala
 55 1 5
 <210> 96

<211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li07 que codifica VL-CDR3
 <400> 96
 caggcgtggg acatcaagac ggtc 24
 <210> 97
 <211> 8
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li07 que codifica VL-CDR3
 <400> 97
Gln Ala Trp Asp Ile Lys Thr Val
 15 1 5
 <210> 98
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li05 que codifica VL-CDR1
 <400> 98
 gggggagaca acattggaag taagagtgtc cac 33
 <210> 99
 25 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li05 que codifica VL-CDR1
 <400> 99
Gly Gly Asp Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val His
 30 1 5 10
 <210> 100
 <211> 21
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li05 que codifica VL-CDR2
 <400> 100
 gatgattatg accggccctc a 21
 40 <210> 101
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li05 que codifica VL-CDR2
 <400> 101
Asp Asp Tyr Asp Arg Pro Ser
 1 5
 <210> 102
 <211> 33
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li05 que codifica VL-CDR3
 <400> 102
 55 caggtgaggg acagccgtac tgaggaacgg gtc 33
 <210> 103
 <211> 11

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li05 que codifica VL-CDR3
 <400> 103
 Gln Val Arg Asp Ser Arg Thr Glu Glu Arg Val
 1 5 10
 <210> 104
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li11 que codifica VL-CDR1
 <400> 104
 cgggcgagtc aggagattgc caactactta gcc 33
 <210> 105
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li11 que codifica VL-CDR1
 <400> 105
 Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ala Asn Tyr Leu Ala
 1 5 10
 <210> 106
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li11 que codifica VL-CDR2
 <400> 106
 gatacataca cttgcagac t 21
 <210> 107
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li11 que codifica VL-CDR2
 <400> 107
 Asp Thr Tyr Thr Leu Gln Thr
 1 5
 <210> 108
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li11 que codifica VL-CDR3
 <400> 108
 caacaggctg acatttccc gctctct 27
 <210> 109
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li11 que codifica VL-CDR3
 <400> 109
 Gln Gln Ala Asp Ile Phe Pro Leu Ser
 1 5
 <210> 110
 <211> 32

ES 2 673 153 T3

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li01 que codifica VL-CDR1
 5 <400> 110
 caggcgagtc aggacattag caactattta aa 32
 <210> 111
 <211> 11
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li01 que codifica VL-CDR1
 <400> 111
Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
 1 5 10
 15 <210> 112
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li01 que codifica VL-CDR2
 <400> 112
 gatgcatcca atttgaaac a 21
 <210> 113
 <211> 7
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li01 que codifica VL-CDR2
 <400> 113
Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr
 1 5
 30 <210> 114
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li01 que codifica VL-CDR3
 <400> 114
 caacaggctg acaggtccc tgcggtcact 30
 <210> 115
 40 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li01 que codifica VL-CDR3
 <400> 115
Gln Gln Ala Asp Arg Phe Pro Ala Val Thr
 1 5 10
 <210> 116
 <211> 33
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li06 que codifica VL-CDR1
 <400> 116
 cgggccagtc agagtattag tagctggttg gcc 33
 55 <210> 117
 <211> 11
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li06 que codifica VL-CDR1
 <400> 117
 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala
 5 1 5 10
 <210> 118
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li06 que codifica VL-CDR2
 <400> 118
 gctgcatcca gtttacgaac t 21
 <210> 119
 15 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li06 que codifica VL-CDR2
 20 <400> 119
 Ala Ala Ser Ser Leu Arg Thr
 1 5
 <210> 120
 <211> 27
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li06 que codifica VL-CDR3
 <400> 120
 ctacaagatt acagttacc tctcact 27
 30 <210> 121
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li06 que codifica VL-CDR3
 <400> 121
 Leu Gln Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr
 1 5
 <210> 122
 <211> 33
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li08 que codifica VL-CDR1
 <400> 122
 45 caggcgagtc aggacattag ttactattha aat 33
 <210> 123
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li08 que codifica VL-CDR1
 <400> 123
 Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Tyr Tyr Leu Asn
 1 5 10
 <210> 124
 <211> 21
 55 <212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li08 que codifica VL-CDR2
 <400> 124
 5 gatgtatcca attgcaaac a 21
 <210> 125
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li08 que codifica VL-CDR2
 <400> 125
Asp Val Ser Asn Leu Gln Thr
 1 5
 <210> 126
 15 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li08 que codifica VL-CDR3
 20 <400> 126
 caacagtctg ataatctccc tctcact 27
 <210> 127
 <211> 9
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li08 que codifica VL-CDR3
 <400> 127
Gln Gln Ser Asp Asn Leu Pro Leu Thr
 1 5
 30 <210> 128
 <211> 32
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li03 que codifica VL-CDR1
 <400> 128
 gggcaagtca gagcattagc agctatttaa at 32
 <210> 129
 <211> 11
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li03 que codifica VL-CDR1
 <400> 129
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
 45 1 5 10
 <210> 130
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li03 que codifica VL-CDR2
 <400> 130
 gctgcatcca gttgcaaag t 21
 <210> 131
 55 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

ES 2 673 153 T3

<220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li03 que codifica VL-CDR2
 <400> 131
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
 1 5
 5 <210> 132
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li03 que codifica VL-CDR3
 <400> 132
 caacagagtt acagtacccc gtggacg 27
 <210> 133
 <211> 9
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li03 que codifica VL-CDR3
 <400> 133
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
 1 5
 20 <210> 134
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li09 que codifica VL-CDR1
 <400> 134
 cgcgcaagtc agagcatcga cacctattta aat 33
 <210> 135
 30 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li09 que codifica VL-CDR1
 <400> 135
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asp Thr Tyr Leu Asn
 1 5 10
 <210> 136
 <211> 21
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li09 que codifica VL-CDR2
 <400> 136
 gctgcatcca agttggaaga c 21
 45 <210> 137
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 50 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li09 que codifica VL-CDR2
 <400> 137
Ala Ala Ser Lys Leu Glu Asp
 1 5
 <210> 138
 <211> 26
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li09 que codifica VL-CDR3
 <400> 138
 caacagagtt acagtcccc tctcac 26
 5 <210> 139
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li09 que codifica VL-CDR3
 <400> 139
 Gln Gln Ser Tyr Ser Pro Pro Leu Thr
 1 5
 <210> 140
 <211> 33
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li02 que codifica VL-CDR1
 <400> 140
 20 tctggagata aattggggga taaattgct tcc 33
 <210> 141
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li02 que codifica VL-CDR1
 <400> 141
 Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Phe Ala Ser
 1 5 10
 <210> 142
 30 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li02 que codifica VL-CDR2
 35 <400> 142
 caagatagga agcgtctctc a 21
 <210> 143
 <211> 7
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li02 que codifica VL-CDR2
 <400> 143
 Gln Asp Arg Lys Arg Leu Ser
 1 5
 45 <210> 144
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 50 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li02 que codifica VL-CDR3
 <400> 144
 caggcgtggg acaccaacac tgtggtc 27
 <210> 145
 <211> 9
 55 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

ES 2 673 153 T3

<223> Secuencia sintética de anticuerpo Li02 que codifica VL-CDR3
 <400> 145
Gln Ala Trp Asp Thr Asn Thr Val Val
 1 5
 <210> 146
 5 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 1A7 que codifica VL-CDR1
 <400> 146
Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
 1 5 10
 <210> 147
 <211> 7
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 1A7 que codifica VL-CDR2
 <400> 147
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
 1 5
 20 <210> 148
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 1A7 que codifica VL-CDR3
 <400> 148
Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr
 1 5
 <210> 149
 <211> 11
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 2F3 que codifica VL-CDR1
 <400> 149
Arg Ala Ser Gly Asn Ile Tyr Asn Tyr Leu Ala
 35 1 5 10
 <210> 150
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 2F3 que codifica VL-CDR2
 <400> 150
Asn Ala Lys Thr Leu Pro Asp
 1 5
 <210> 151
 45 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 2F3 que codifica VL-CDR3
 <400> 151
Gln His Phe Trp Ala Ile Pro Tyr Thr
 1 5
 <210> 152
 55 <211> 17

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3P1D10.2C3 que codifica VL-CDR1
 <400> 152
 5 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
 1 5 10 15

 Thr
 <210> 153
 <211> 7
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3P1D10.2C3 que codifica VL-CDR2
 <400> 153
 Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
 15 1 5
 <210> 154
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3P1D10.2C3 que codifica VL-CDR3
 <400> 154
 Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Phe Thr
 1 5 10
 <210> 155
 <211> 17
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3P1E11.3B7 que codifica VL-CDR1
 <400> 155
 30 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Ser Tyr Leu
 1 5 10 15

 Thr
 <210> 156
 <211> 7
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3P1E11.3B7 que codifica VL-CDR2
 <400> 156
 Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
 40 1 5
 <210> 157
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3P1E11.3B7 que codifica VL-CDR3
 <400> 157
 Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Phe Thr
 1 5 10
 <210> 158
 <211> 133
 50 <212> PRT

ES 2 673 153 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li02

<400> 158

Glu Val Gln Leu Leu 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 Thr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Gly Pro Ser Gly Gly Leu Thr Trp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

5

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 Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Ile Asp Asp Ser Ser Gly Trp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro
130

<210> 159

<211> 145

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li09

<400> 159

ES 2 673 153 T3

Glu Val Gln Leu Leu 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 Met Tyr
 20 25 30
 Ser Met Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Pro Ser Gly Gly Lys Thr Met Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Phe 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 Asp Ser Arg Arg Arg Tyr Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr His
 100 105 110
 Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val
 115 120 125
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 130 135 140

Pro
 145
 <210> 160
 <211> 131
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li06
 <400> 160

5

ES 2 673 153 T3

Glu Val Gln Leu Leu 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 Glu Tyr
 20 25 30

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

Ser Ser Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ser Thr Val Tyr Ala Asp Ser Ile
 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 Glu Gly Asp Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

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

Leu Ala Pro
 130

<210> 161

<211> 131

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li05

<400> 161

Glu Val Gln Leu Leu 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 Ala Tyr
 20 25 30

10

ES 2 673 153 T3

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

Ser Ser Ile Val Ser Ser Gly Gly Tyr Thr Asp 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 Glu Gly Asp His Asn Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

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

Leu Ala Pro
 130

<210> 162

<211> 131

<212> PRT

5

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li04

<400> 162

Glu Val Gln Leu Leu 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 Arg Tyr
 20 25 30

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

Ser Val Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Gly Thr His 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 Ser Ser Ile Ala Asp Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

10

ES 2 673 153 T3

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

Leu Ala Pro
 130

<210> 163

<211> 131

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li08

<400> 163

Glu Val Gln Leu Leu 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 His Tyr
 20 25 30

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

Ser Ser Ile Arg Ser Ser Gly Gly Ala Thr Lys 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 Lys Glu Ser Pro Asp Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

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

Leu Ala Pro
 130

10 <210> 164

<211> 134

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li11

<400> 164

ES 2 673 153 T3

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

Ser Ser Ile Ser Thr Ser Gly Gly Tyr Thr Gly 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 Asp Thr Ser Asp Asn Asp Tyr Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly
100 105 110

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro
130

<210> 165

<211> 133

<212> PRT

5

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li10

<400> 165

Glu Val Gln Leu Leu 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 Thr Tyr
20 25 30

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

Ser Trp Ile Gly Pro Ser Gly Gly Val Thr Ala 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

10

ES 2 673 153 T3

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

Ala Arg Pro Tyr Ser Ser Gly Trp Trp Asp Phe Asp Leu Trp Gly Arg
100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro
130

<210> 166

<211> 131

<212> PRT

5

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li01

<400> 166

Glu Val Gln Leu Leu 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 Lys Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Asn Thr Val 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 Ser Gly Thr Thr Glu Ala Val Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

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

Leu Ala Pro
130

10

<210> 167

<211> 129

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15

<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li07

<400> 167

ES 2 673 153 T3

Glu Val Gln Leu Leu 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 Met Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gly Phe Thr Ser 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 Asp Arg His Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val
100 105 110

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

Pro

<210> 168

<211> 132

<212> PRT

5

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li03

<400> 168

Glu Val Gln Leu Leu 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 Gln Tyr
20 25 30

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

10

ES 2 673 153 T3

Ser Gly Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ser Thr Val 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 Ala Gly Gln Trp Leu Gly Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro
130

<210> 169

<211> 145

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li12

<400> 169

Glu Val Gln Leu Leu 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 Gln Tyr
20 25 30

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

Ser Arg Ile Ser Ser Ser Gly Gly Met Thr Met 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 Glu Ala Leu Arg Pro Tyr Cys Ser Gly Gly Ser Cys Tyr Ser
100 105 110

Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

5

10

ES 2 673 153 T3

		115					120						125				
		Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
		130					135						140				
		Pro															
		145															
		<210>	170														
		<211>	116														
		<212>	PRT														
5		<213>	Secuencia artificial														
		<220>															
		<223>	Secuencia sintética de cadena pesada variable 1A7														
		<400>	170														
		Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Glu
		1			5						10					15	
		Thr	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asn	Tyr
				20						25					30		
		Gly	Met	Asn	Trp	Val	Lys	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Lys	Trp	Met
			35						40					45			
		Gly	Trp	Ile	Asn	Thr	Asp	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Thr	Glu	Asp	Phe
			50					55					60				
		Gln	Gly	Arg	Phe	Ala	Phe	Ser	Leu	Glu	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Val	Tyr
		65					70					75					80
		Leu	Gln	Phe	Asn	Asn	Leu	Lys	Asn	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys
					85						90					95	
		Ala	Arg	Glu	Gly	Val	His	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val
					100					105					110		
		Thr	Val	Ser	Ser												
				115													
		<210>	171														
10		<211>	115														
		<212>	PRT														
		<213>	Secuencia artificial														
		<220>															
		<223>	Secuencia sintética de cadena pesada variable 2F3														
		<400>	171														
15		Glu	Val	Lys	Leu	Glu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
		1			5						10					15	

ES 2 673 153 T3

Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala
20 25 30

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

Ala Glu Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn His Ala Thr Asn Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Phe Cys Thr Pro Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 172

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable 3P1D10.2C3 y 3P1E11.3B7

<400> 172

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

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

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

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg His Asn Ser Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

5

10

ES 2 673 153 T3

<210> 173
 <211> 399
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li02
 <400> 173
 gaagttcaat tgtagagtc tggtagcgt cttgttcagc ctggtggttc tttacgtctt 60
 tcttgcgctg cttccggatt cactttctct acttacgaga tgatttgggt tcgccaagct 120
 cctggtaaag gtttggagtg ggtttcttct atcgttcctt ctggtggcct tacttggtat 180
 gctgactccg ttaaaggctg cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240
 ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac accgccatgt attactgtgt acggattgat 300
 gatagtagtg gttgggcttt tgatatctgg ggccaaggga ccacggcac cgtctcaagc 360
 gcctccacca agggcccatc ggtcttccc ctagcacc 399
 <210> 174
 10 <211> 435
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li09
 15 <400> 174
 gaagttcaat tgtagagtc tggtagcgt cttgttcagc ctggtggttc tttacgtctt 60
 tcttgcgctg cttccggatt cactttctct atgtactcta tggtttgggt tcgccaagct 120
 cctggtaaag gtttggagtg ggtttcttat atctctcctt ctggtggcaa gactatgtat 180
 gctgactccg ttaaaggctg cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactttctac 240
 ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagattcg 300
 agacgccgtt attacgattt ttggagtgggt tatcacaact actactacta ctacatggac 360
 gtctggggca aagggaccac ggtcaccgtc tcaagcgcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
 ttcccgtag cacc 435
 <210> 175
 <211> 393
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li06
 <400> 175
 gaagttcaat tgtagagtc tggtagcgt cttgttcagc ctggtggttc tttacgtctt 60
 tcttgcgctg cttccggatt cactttctct gactacccta tggattgggt tcgccaagct 120
 cctggtaaag gtttggagtg ggtttcttct atctattctt ctggtggctc tactgtttat 180
 gctgactcca ttaaaggctg cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240
 ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc cagagagggt 300
 gactctgatg cttttgatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc aagcgcctcc 360
 accaagggcc catcgggtctt cccgctagca ccc 393
 25 <210> 176

ES 2 673 153 T3

	<211> 393	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li05	
	<400> 176	
	gaagttcaat tgtagagtc tggtagcggc cttgttcagc ctggtgggtc tttacgtctt	60
	tcttgcgctg cttccggatt cactttctct gcttacgcta tgggttgggt tcgccaagct	120
	cctggtaaag gtttggagtg ggtttcttct atcgtttctt ctggtggcta tactgattat	180
	gctgactccg ttaaaggctg cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac	240
	ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc cagagagggg	300
	gaccataatg cttttgatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc aagcgcctcc	360
	accaagggcc catcgggtctt cccgctagca ccc	393
	<210> 177	
10	<211> 393	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li04	
	<400> 177	
	gaagttcaat tgtagagtc tggtagcggc cttgttcagc ctggtgggtc tttacgtctt	60
	tcttgcgctg cttccggatt cactttctct cgttacaata tgggttgggt tcgccaagct	120
	cctggtaaag gtttggagtg ggtttctgtt atctatcctt ctggtggcgg tactcattat	180
	gctgactccg ttaaaggctg cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac	240
	ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagttctata	300
	gcagatgatg cttttgatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc aagcgcctcc	360
	accaagggcc catcgggtctt cccgctagca ccc	393
15	<210> 178	
	<211> 393	
	<212> ADN	
20	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li08	
	<400> 178	
	gaagttcaat tgtagagtc tggtagcggc cttgttcagc ctggtgggtc tttacgtctt	60
	tcttgcgctg cttccggatt cactttctct cattacgaga tgggttgggt tcgccaagct	120
	cctggtaaag gtttggagtg ggtttcttct atccgttctt ctggtggcgc tactaagtat	180
	gctgactccg ttaaaggctg cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac	240
	ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaagagtgc	300
	ccagacgact actttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc aagcgcctcc	360
	accaagggcc catcgggtctt cccgctagca ccc	393
	<210> 179	
25	<211> 402	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	

ES 2 673 153 T3

<220>
 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li11
 <400> 179
 gaagttcaat tgtagagtc tgggtggcggc cttgttcagc ctgggtgggtc tttacgtcctt 60
 tcttgcgctg cttccggatt cactttctct tcttaacgcta tgtattgggt tcgccaagct 120
 cctggtaaag gtttggagtg ggtttcttct atctctactt ctgggtggcta tactggttat 180
 gctgactccg ttaaaggctc cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240
 ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatacc 300
 agcgataatg actactacta catggacgtc tggggcaaag ggaccacggt caccgtctca 360
 agcgcctcca ccaagggccc atcggctctc ccgctagcac cc 402

5
 <210> 180
 <211> 399
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li10
 <400> 180
 gaagttcaat tgtagagtc tgggtggcggc cttgttcagc ctgggtgggtc tttacgtcctt 60
 tcttgcgctg cttccggatt cactttctct acttaacccta tggtttgggt tcgccaagct 120
 cctggtaaag gtttggagtg ggtttcttgg atcggctcctt ctgggtggcgt tactgcttat 180
 gctgactccg ttaaaggctc cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240
 ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaccctat 300
 agcagtggct ggtgggactt cgatctctgg ggccgtggca ccctggtcac cgtctcaagc 360
 gcctccacca agggcccatc ggtcttccc ctagcacc 399

15
 <210> 181
 <211> 393
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li01
 <400> 181
 gaagttcaat tgtagagtc tgggtggcggc cttgttcagc ctgggtgggtc tttacgtcctt 60
 tcttgcgctg cttccggatt cactttctct aagtaccaga tgacttgggt tcgccaagct 120
 cctggtaaag gtttggagtg ggtttcttct atctatcctt ctgggtggcaa tactgtttat 180
 gctgactccg ttaaaggctc cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240
 ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagtgggact 300
 acagaggcag tctttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc aagcgcctcc 360
 accaagggcc catcggctctt cccgctagca ccc 393

25
 <210> 182
 <211> 387
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li07
 <400> 182

ES 2 673 153 T3

	gaagttcaat tgtagagtc tgggtggcggc cttgttcagc ctgggtgggtc tttacgtcct	60
	tcttgcgctg cttccggatt cactttctct atgtacttta tgggttgggt tcgccaagct	120
	cctggtaaag gtttggagtg ggtttctctc atctctcctt ctgggtggctt tacttcttat	180
	gctgactccg ttaaaggctg cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac	240
	ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac actgcagtct actattgtgc gagagatcgg	300
	catgcttttg atatctgggg ccaagggaca atggtcaccg tctcaagcgc ctccaccaag	360
	ggcccatcgg tcttcccgt agcacc	387
	<210> 183	
	<211> 396	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li03	
	<400> 183	
10	gaagttcaat tgtagagtc tgggtggcggc cttgttcagc ctgggtgggtc tttacgtcct	60
	tcttgcgctg cttccggatt cactttctct cagtacccta tggagtgggt tcgccaagct	120
	cctggtaaag gtttggagtg ggtttctcgt atctatcctt ctgggtggctc tactgtttat	180
	gctgactccg ttaaaggctg cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac	240
	ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagcgggg	300
	cagtggctgg gggactttga ctactggggc caggaaccc tggtcaccgt ctcaagcgc	360
	tccaccaagg gcccatcggc cttcccgtc gcacc	396
	<210> 184	
	<211> 435	
15	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li12	
	<400> 184	
	gaagttcaat tgtagagtc tgggtggcggc cttgttcagc ctgggtgggtc tttacgtcct	60
	tcttgcgctg cttccggatt cactttctct cagtacaata tgttttgggt tcgccaagct	120
	cctggtaaag gtttggagtg ggtttctcgt atctcttctt ctgggtggcat gactatgtat	180
	gctgactccg ttaaaggctg cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac	240
	ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaagcg	300
	ttacggcctt attgtagtgg tggtagctgc tactccgact actactacta cggtagggac	360
	gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc tcaagcgcct ccaccaaggg cccatcggtc	420
	ttcccgtcag cacc	435
20	<210> 185	
	<211> 357	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li02	
	<400> 185	

ES 2 673 153 T3

ttctattctc acagtgcaca gtacgaattg actcagccac cctcagtgtc cgtgtcccca 60
 ggacagacag ccagcatcac ctgctctgga gataaattgg gggataaatt tgcttcctgg 120
 tatcagcaga aggcaggcca gtcccctgtg ctggatcatct ttcaagatag gaagcgtctc 180
 tcagggatcc ctgagcgatt ctctggctcc aactctggga acacagccac tctgaccatc 240
 agcgggaccc aggctatgga tgaggctgac tattactgtc aggcgtggga caccaacact 300
 gtggtcttcg gcggaggac caagctgacc gtcctaggtc agcccaaggc tgcccc 357
 <210> 186
 <211> 360
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li09
 <400> 186
 ttctattctc acagtgcaca agacatccag atgaccagc ctccatcctc cctgtctgca 60
 tttgtgggag acagagtcgc catcacttgc cgcgcaagtc agagcatcga cacctattta 120
 aattggtatc agcagaaacc agggaaagcc cctaaactcc tgatctatgc tgcattcaag 180
 ttggaagacg ggtcccatc aagattcagt ggcagtggaa ctgggacaga tttcactctc 240
 accatcagaa gctcgaacc tgaagatctt ggaacttact actgtcaaca gagttacagt 300
 cccctctca ctttggcgg agggaccaag gtggagatca aacgaactgt ggctgcacca 360
 10 <210> 187
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li06
 <400> 187
 ttctattctc acagtgcaca agacatccag atgaccagc ctccatccac cctgtctgca 60
 tctgtaggag acagagtcac catcacttgc cgggccagtc agagtattag tagctggttg 120
 gcctggtatc agcagaaacc agggaaagcc cctaaactcc tgatctatgc tgcattcagt 180
 ttacgaactg ggtcccatc aagattcagg ggcagtggat ctggcacaga tttcactctc 240
 accatcagca gcctgcagcc tgaagatctt gcaactgatt actgtctaca agattacagt 300
 taccctctca cttttggcca gggaccaag ctggagatca aacgaactgt ggctgcacca 360
 20 <210> 188
 <211> 363
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li05
 25 <400> 188

ES 2 673 153 T3

ttctattctc acagtgcaca gagegtcttg actcagccac cctcgggtgc agtggcccca 60
 ggccagacgg ccaggatttc ctgtggggga gacaacattg gaagtaagag tgtccactgg 120
 taccagcaga ggccaggcca ggcccctgtc ctggtogtgt atgatgatta tgaccggccc 180
 tcagggatcc ctgagcgatt ctctggctcc aactctgggg acacggccat cctgaccatc 240
 accagggtcg aagtogggga tgaggccgac ttttattgtc aggtgagggga cagccgtact 300
 gaggaacggg tgttcggcgg agggaccaag gtgaccgtct taggtcagcc caaggctgcc 360
 ccc 363
 <210> 189
 <211> 360
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li08
 <400> 189
 ttctattctc acagtgcaca agacatccag atgaccaggt ctccatcttc cctgtctgca 60
 tctgtaggag acagagtcac catcacttgc caggcgagtc aggacattag ttactattta 120
 aattggtatc agcagaagcc agggaaagcc cctaaggtcc tgatctacga tgtatccaat 180
 ttgcaaacag ggttccatc aaggttcagt ggaagtgcgt ctgcgacaga ttttactctc 240
 accatcagca gcctgcagcc tgaagatatt gcgacatatt actgtcaaca gtctgataat 300
 ctccctctca ctttcggcgg agggaccaag gtggagatta aacgaactgt ggctgcacca 360
 10 <210> 190
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li11
 <400> 190
 ttctattctc acagtgcaca agacatccag atgaccaggt ctccatcttc tgtgtctgca 60
 cctataggag acagagtcac catcacttgt cggcgagtc aggagattgc caactactta 120
 gcctggtatc agcagaaacc agggaaagcc cctaagctcc tgatctatga tacatacact 180
 ttgcagactg acgtcccacc gaggttcagc ggcagtggtt cggggacaga tttcactctc 240
 actatcagca gcctgcagcc tgaagatact gcaacttact tttgtcaaca ggctgacatt 300
 ttcccgtctc ctttcggcgg agggaccaag gtggagatca aacgaactgt ggctgcacca 360
 20 <210> 191
 <211> 366
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li10
 <400> 191

ES 2 673 153 T3

	ttctattctc acagtgaca agacatccag atgaccagc ctccatcttc catgtctgct	60
	tctgtagggg acacagtcac catcacttgt cgggcgagtc agggatttgg caactgggta	120
	gcctgtatc agcagaaacc agggaaagcc ccaactctcc tgatctatgc tgcattccagc	180
	ttggaaagtg gggcccacac aagggtcacc ggcagcggca gttcctctgg gatagatttc	240
	actctcacca tcagcgacct gcaccctgaa gatttggcaa ctactattg tcaacaggct	300
	cagactttcc cgctcacctt cggcggaggg accaggggtg acctcaagcg aactgtggct	360
	gcacca	366
	<210> 192	
	<211> 363	
	<212> ADN	
5	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li01	
	<400> 192	
	ttctattctc acagtgaca agacatccag atgaccagc ctccatcttc cctgtctgca	60
	tctgtagggg acagagtcac catcacttgc caggcgagtc aggacattag caactattta	120
	aattggtatc agcagaaacc agggaaagcc cctaagctcc tgatctacga tgcattccaat	180
	ttggaaacag gggcccacac aagggtcacc ggcagcggca gttcctctgg gatagatttc	240
	accatcagca gcctgcagcc tgaagatttt gcaacttact attgtcaaca ggctgacagg	300
	ttccctgcgg tcactttcgg cggaggagacc aagggtgaga tcaaacgaac tgtggctgca	360
	cca	363
10	<210> 193	
	<211> 354	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
15	<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li07	
	<400> 193	
	ttctattctc acagtgaca gagcgaattg actcagccac cctcagtgtc cgtgtcccca	60
	ggacagacag ccatcatcac ctgctctgga gatcagttgg gtgacaaaca tgtggcttgg	120
	tatcaacaga agccaggcca gtcccctgtg ctggtcatct atctagacat taagaggccc	180
	gcagggattt ctgagcgatt ctctggctcc aactctggaa atacagccac tctgaccatc	240
	agagggaacc aggctatgga tgaagctgac tattactgtc aggcgtggga catcaagacg	300
	gtcttcggcg gggggaccaa gctgaccgtc ctgagtcagc ccaaggctgc cccc	354
	<210> 194	
	<211> 360	
20	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li03	
	<400> 194	

ES 2 673 153 T3

```

ttctattctc acagtgcaca agacatccag atgaccocagt ctocatcctc cctgtctgca      60
tctgtaggag acagagtcac catcaactgc cgggcaagtc agagcattag cagctattta      120
aattggtatc agcagaaacc agggaaagcc cctaagctcc tgatctatgc tgcacccagt      180
ttgcaaagtg gggcccacac aaggttcagt ggcagtgat ctgggacaga ttccactctc      240
accatcagca gtctgcaacc tgaagatfff gcaacttact actgtcaaca gagttacagt      300
accccgtgga cgttcggcca agggaccaag gtggaaatca aacgaactgt ggctgcacca      360
5
<210> 195
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
10
<223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.01 que codifica VH-CDR1
<400> 195
Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Trp Ile Gly
1           5           10
<210> 196
<211> 17
<212> PRT
15
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.01 que codifica VH-CDR2
<400> 196
Ile Ile Asp Pro Asp Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1           5           10           15

Gly
20
<210> 197
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
25
<223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.01 que codifica VH-CDR3
<400> 197
Ala Glu Phe Tyr Trp Gly Ala Tyr Asp Gly
1           5           10
<210> 198
<211> 10
30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.02 que codifica VH-CDR1
<400> 198
Gly Gly Ser Ile Arg Gly Asn Tyr Trp Ser
35
1           5           10
<210> 199
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
40
<220>
<223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.02 que codifica VH-CDR2
<400> 199
Ser Ile Asn Tyr Ser Gly Phe Thr Asn Pro Ser Leu Lys Gly
1           5           10
<210> 200
45
<211> 8

```

ES 2 673 153 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.02 que codifica VH-CDR3
 <400> 200
 Val Arg His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5
 <210> 201
 <211> 10
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.03 que codifica VH-CDR1
 <400> 201
 Gly Tyr Thr Phe Asn Gly Phe Asp Met His
 1 5 10
 15 <210> 202
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.03 que codifica VH-CDR2
 <400> 202
 Trp Ile Asp Pro Tyr Asn Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

 Gly
 <210> 203
 <211> 13
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.03 que codifica VH-CDR3
 <400> 203
 Asp Phe Tyr Met Asp Gly His Tyr Tyr Ile Phe Asp Val
 1 5 10
 30 <210> 204
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.04 que codifica VH-CDR1
 <400> 204
 Gly Tyr Ser Phe Ser Asn Tyr Tyr Ile His
 1 5 10
 40 <210> 205
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.04 que codifica VH-CDR2
 <400> 205

 Ile Ile Asp Pro Gly Asp Ser Phe Thr Ser Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
 1 5 10 15

 Gly
 <210> 206
 <211> 11

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.04 que codifica VH-CDR3
 <400> 206
 5 **Asp Leu Ala Trp Ile Asp Tyr Gly Phe Asp Tyr**
 1 5 10
 <210> 207
 <211> 10
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.05 que codifica VH-CDR1
 <400> 207
 Gly Phe Thr Phe Thr Ser His Thr Val Ser
 1 5 10
 15 <210> 208
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.05 que codifica VH-CDR2
 <400> 208
 Ser Ile Thr Gly Asn Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

 Gly
 <210> 209
 <211> 7
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.05 que codifica VH-CDR3
 <400> 209
 Phe Tyr Gly Asp Phe Asp Ser
 1 5
 30 <210> 210
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.06 que codifica VH-CDR1
 <400> 210
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn Trp Met Ser
 1 5 10
 40 <210> 211
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.06 que codifica VH-CDR2
 <400> 211
 Thr Ile Phe Tyr Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

 Gly
 <210> 212
 <211> 17

ES 2 673 153 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.06 que codifica VH-CDR3
 <400> 212
 5 Asp Leu Pro Met Lys Gly Phe Ile Gln Gln Arg Tyr Gly Phe Asp Asp
 1 5 10 15

 Val
 <210> 213
 <211> 10
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.07 que codifica VH-CDR1
 <400> 213
 Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Ala Ile Ser
 1 5 10
 15 <210> 214
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.07 que codifica VH-CDR2
 <400> 214
 Thr Ile Trp Gly Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

 Gly
 <210> 215
 <211> 11
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.07 que codifica VH-CDR3
 <400> 215
 Glu Tyr Trp Tyr Tyr Asp Gln Phe Thr Ala Val
 1 5 10
 30 <210> 216
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.08 que codifica VH-CDR1
 <400> 216
 Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Ser Ala Ala Trp Ser
 1 5 10
 40 <210> 217
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.08 que codifica VH-CDR2
 <400> 217
 45 Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala Val Ser Val
 1 5 10 15

 Lys Ser

ES 2 673 153 T3

<210> 218
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.08 que codifica VH-CDR3
 <400> 218
 Glu Val Tyr Ser Ala Gly Ile Met Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 219
 10 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.09 que codifica VH-CDR1
 15 <400> 219
 Gly Tyr Ser Phe Thr Asn His Trp Ile Gly
 1 5 10
 <210> 220
 <211> 17
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.09 que codifica VH-CDR2
 <400> 220
 Ile Ile Asp Pro Ser Asp Ser Asp Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
 1 5 10 15

 Gly
 25 <210> 221
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.09 que codifica VH-CDR3
 <400> 221
 Gly Phe Tyr Gly Ile Ala Asp Thr Phe Asp Val
 1 5 10
 <210> 222
 <211> 10
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.10 que codifica VH-CDR1
 <400> 222
 Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Trp Ile Ala
 40 1 5 10
 <210> 223
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.10 que codifica VH-CDR2
 <400> 223
 Met Ile Tyr Pro Asp Asp Ser Asn Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
 1 5 10 15

 Gly

<210> 224
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.10 que codifica VH-CDR3
 <400> 224
 Thr Asn Tyr Leu Gly Phe Tyr Asp Ser
 1 5
 <210> 225
 10 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.11 que codifica VH-CDR1
 15 <400> 225
 Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Gly Ile Ser
 1 5 10
 <210> 226
 <211> 17
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.11 que codifica VH-CDR2
 <400> 226
 Asn Ile Leu Tyr Asp Gly Ser Glu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

 Gly
 25 <210> 227
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.11 que codifica VH-CDR3
 <400> 227
 Gly Tyr Pro Thr Asp Asp Tyr Ser Phe Asp Ile
 1 5 10
 <210> 228
 <211> 12
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.12 que codifica VH-CDR1
 <400> 228
 Gly Asp Ser Val Ser Asp Asn Ser Ala Ala Trp Gly
 40 1 5 10
 <210> 229
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.12 que codifica VH-CDR2
 <400> 229
 Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala Val Ser Val
 1 5 10 15

 Lys Ser
 <210> 230

<211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.12 que codifica VH-CDR3
 <400> 230
 Gly Arg His Glu Tyr Gly Gly Leu Gly Tyr Ala Glu Ala Met Asp His
 1 5 10 15
 <210> 231
 <211> 10
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.13 que codifica VH-CDR1
 <400> 231
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser
 1 5 10
 <210> 232
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.13 que codifica VH-CDR2
 <400> 232
 Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

 Gly
 25 <210> 233
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.13 que codifica VH-CDR3
 <400> 233
 His Tyr Thr Tyr Met His Phe Glu Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 234
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.01 que codifica VL-CDR1
 <400> 234
 Ser Gly Asp Ser Leu Pro Ser Lys Phe Val His
 1 5 10
 <210> 235
 <211> 7
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.01 que codifica VL-CDR2
 <400> 235
 Arg Asp Asn Asn Arg Pro Ser
 1 5
 50 <210> 236
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

ES 2 673 153 T3

<223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.01 que codifica VL-CDR3
 <400> 236
Ser Ser Tyr Asp Ala Leu Thr Asp
 1 5
 <210> 237
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.02 que codifica VL-CDR2
 <400> 237
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Thr Asn Ser Tyr Leu Gly
 1 5 10
 <210> 238
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.02 que codifica VL-CDR2
 <400> 238
Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr
 1 5
 <210> 239
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.02 que codifica VL-CDR3
 <400> 239
Gln Gln Ala Ser Asp Ala Pro Glu
 1 5
 <210> 240
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.03 que codifica VL-CDR1
 <400> 240
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asn Phe Trp Leu Asn
 1 5 10
 <210> 241
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.03 que codifica VL-CDR2
 <400> 241
Ala Gly Ser Asn Leu Gln Ser
 1 5
 <210> 242
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.03 que codifica VL-CDR3
 <400> 242
Met Gln Asp Ser Asp Phe Pro Phe
 1 5
 <210> 243
 <211> 14
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.04 que codifica VL-CDR1
 <400> 243
 Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val Ser
 5 1 5 10
 <210> 244
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.04 que codifica VL-CDR2
 <400> 244
 Arg Asn Asn Asn Arg Pro Ser
 1 5
 15 <210> 245
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.04 que codifica VL-CDR3
 20 <400> 245
 Gln Thr Tyr Asp Asn Ser Thr Asp
 1 5
 <210> 246
 <211> 11
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.05 que codifica VL-CDR1
 <400> 246
 Ser Gly Asp Asn Ile Arg Ser Tyr Tyr Val His
 30 1 5 10
 <210> 247
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.05 que codifica VL-CDR2
 <400> 247
 Glu Asp Ser Asn Arg Pro Ser
 1 5
 <210> 248
 <211> 10
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.05 que codifica VL-CDR3
 <400> 248
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ala Ile Leu Leu His
 45 1 5 10
 <210> 249
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.06 que codifica VL-CDR1
 <400> 249
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Leu Arg Thr Gly Tyr Thr Tyr Leu Asn
 1 5 10 15
 <210> 250

<211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.06 que codifica VL-CDR2
 <400> 250
Leu Val Ser Asn Arg Ala Ser
 1 5
 <210> 251
 <211> 8
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.06 que codifica VL-CDR3
 <400> 251
Gln Gln Tyr Tyr Gly Met Pro Leu
 1 5
 <210> 252
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.07 que codifica VL-CDR1
 <400> 252
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Gln Tyr Leu Ala
 1 5 10
 <210> 253
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.07 que codifica VL-CDR2
 30 <400> 253
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
 1 5
 <210> 254
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.07 que codifica VL-CDR3
 <400> 254
Gln Gln Tyr Gly Ser Val Pro Arg
 1 5
 <210> 255
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.08 que codifica VL-CDR1
 45 <400> 255
Ser Gly Asp Ser Leu Gly Ser Tyr Tyr Val His
 1 5 10
 <210> 256
 <211> 7
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.08 que codifica VL-CDR2
 <400> 256

Asp Asp Asn Asp Arg Pro Ser
 1 5
 <210> 257
 <211> 9
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.08 que codifica VL-CDR3
 <400> 257
Ser Ala Tyr Asp Tyr Ser Ala Arg Thr
 1 5
 10 <210> 258
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.09 que codifica VL-CDR1
 <400> 258
Ser Gly Asp Asn Leu Gly Ser Lys Tyr Val Ser
 1 5 10
 <210> 259
 <211> 7
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.09 que codifica VL-CDR2
 <400> 259
Asp Asp Asp Asp Arg Pro Ser
 1 5
 25 <210> 260
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.09 que codifica VL-CDR3
 <400> 260
Ser Ser Tyr Asp Phe Leu Asn Ile Gly Leu
 1 5 10
 35 <210> 261
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 40 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.10 que codifica VL-CDR1
 <400> 261
Ser Gly Asp Ser Leu Gly Lys Lys Ser Val His
 1 5 10
 <210> 262
 <211> 7
 45 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.10 que codifica VL-CDR2
 <400> 262
Glu Asp Ser Glu Arg Pro Ser
 1 5
 50 <210> 263
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

ES 2 673 153 T3

<223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.10 que codifica VL-CDR3
 <400> 263
Ser Ser Tyr Thr Asn Ser Val Asp
 1 5
 <210> 264
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.11 que codifica VL-CDR1
 <400> 264
Ser Gly Asp Asn Leu Gly Lys Lys Tyr Val Gly
 1 5 10
 <210> 265
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.11 que codifica VL-CDR2
 <400> 265
Asp Asp Asp Asn Arg Pro Ser
 1 5
 <210> 266
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.11 que codifica VL-CDR3
 <400> 266
Gln Ser Tyr Asp Asp Thr Ser Ile
 1 5
 <210> 267
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.12 que codifica VL-CDR1
 <400> 267
Ser Gly Asp Ser Leu Gly Asn Lys Tyr Val His
 1 5 10
 <210> 268
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.12 que codifica VL-CDR2
 <400> 268
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser
 1 5
 <210> 269
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.12 que codifica VL-CDR3
 <400> 269
Gln Thr Trp Asp Tyr Val Gly Tyr
 1 5
 <210> 270
 <211> 14
 <212> PRT

ES 2 673 153 T3

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.13 que codifica VL-CDR1
 <400> 270
 Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
 5 1 5 10
 <210> 271
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.13 que codifica VL-CDR2
 <400> 271
 Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser
 1 5
 <210> 272
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo L1a.13 que codifica VL-CDR3
 20 <400> 272
 Gln Ser Tyr Asp Arg Tyr Arg Leu Lys Asn
 1 5 10
 <210> 273
 <211> 119
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li02
 <400> 273
 Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val
 1 5 10 15

 Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys
 20 25 30

 Leu Gly Asp Lys Phe Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ala Gly Gln Ser
 35 40 45
 30 Pro Val Leu Val Ile Phe Gln Asp Arg Lys Arg Leu Ser Gly Ile Pro
 50 55 60

 Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile
 65 70 75 80

 Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp
 85 90 95

 Asp Thr Asn Thr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

 Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro
 115
 <210> 274
 <211> 120
 <212> PRT

ES 2 673 153 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li09

<400> 274

Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ala Phe Val Gly Asp Arg Val Ala Ile Thr Cys Arg Ala
20 25 30

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

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

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Gly Thr Asp Phe Thr Leu
65 70 75 80

Thr Ile Arg Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln
85 90 95

Gln Ser Tyr Ser Pro Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
100 105 110

Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
115 120

5

<210> 275

<211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li06

<400> 275

ES 2 673 153 T3

Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
1 5 10 15

Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
20 25 30

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

Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Arg Thr Gly
50 55 60

Val Pro Ser Arg Phe Arg Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
65 70 75 80

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

Gln Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu
100 105 110

Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
115 120

<210> 276

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li05

<400> 276

Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val
1 5 10 15

Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Ser Cys Gly Gly Asp Asn
20 25 30

Ile Gly Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala
35 40 45

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

5

10

ES 2 673 153 T3

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

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

Asp Ser Arg Thr Glu Glu Arg Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr
100 105 110

Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro
115 120

<210> 277

<211> 120

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li08

<400> 277

Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala
20 25 30

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

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

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Ala Thr Asp Phe Thr Leu
65 70 75 80

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

Gln Ser Asp Asn Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
100 105 110

Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
115 120

10 <210> 278

<211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 673 153 T3

<223> Synthetic L111 variable light chain sequence

<400> 278

Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
1 5 10 15

Ser Val Ser Ala Pro Ile Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
20 25 30

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

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Thr Tyr Thr Leu Gln Thr Asp
50 55 60

Val Pro Pro Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
65 70 75 80

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

Gln Ala Asp Ile Phe Pro Leu Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
100 105 110

Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
115 120

<210> 279

<211> 122

<212> PRT

5

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li10

<400> 279

Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
1 5 10 15

Ser Met Ser Ala Ser Val Gly Asp Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
20 25 30

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

Lys Ala Pro Thr Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly
50 55 60

Val Pro Ser Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Ser Ser Gly Ile Asp Phe
65 70 75 80

10

ES 2 673 153 T3

Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu His Pro Glu Asp Leu Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Gln Gln Ala Gln Thr Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg
100 105 110

Val Asp Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
115 120

<210> 280

<211> 121

<212> PRT

5

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li01

<400> 280

Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala
20 25 30

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

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly
50 55 60

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
65 70 75 80

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

Gln Ala Asp Arg Phe Pro Ala Val Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
100 105 110

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
115 120

10

<210> 281

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li07

<400> 281

ES 2 673 153 T3

Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Ser Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val
1 5 10 15

Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Ile Ile Thr Cys Ser Gly Asp Gln
20 25 30

Leu Gly Asp Lys His Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80

Arg Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp
85 90 95

Asp Ile Lys Thr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser
100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro
115

<210> 282

<211> 120

<212> PRT

5

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li03

<400> 282

Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
20 25 30

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

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

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
65 70 75 80

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

10

ES 2 673 153 T3

Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
 100 105 110

Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 115 120

<210> 283

<211> 106

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable 1A7

<400> 283

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
 35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
 65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr
 85 90 95

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

10 <210> 284

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Secuencia sintética de cadena ligera variable 2F3

<400> 284

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

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gly Asn Ile Tyr Asn Tyr
 20 25 30

ES 2 673 153 T3

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Phe Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Ala Ile Pro Tyr
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 285

<211> 114

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable 3P1D10.2C3

<400> 285

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ile Arg

<210> 286

<211> 114

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable 3P1E11.3B7

<400> 286

5

10

15

ES 2 673 153 T3

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30
 Gly Asn Gln Lys Ser Tyr Leu Thr 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 Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Asn Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95
 Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu
 100 105 110

Ile Arg
 <210> 287
 <211> 5
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento sintético de péptido Sp35
 <220>
 <221> variante
 10 <222> (3)..(5)
 <223> puede ser Arg, His, Gln o Asn
 <400> 287
 Ile Thr Lys Lys Lys
 1 5
 <210> 288
 15 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 20 <220>
 <221> variante
 <222> (3)..(5)
 <223> puede ser Arg, His, Gln o Asn
 <400> 288
 Ala Cys Lys Lys Lys
 25 1 5
 <210> 289
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <220>
 <221> variante

<222> (3)..(5)
 <223> puede ser Arg, His, Gln o Asn
 <400> 289
Val Cys Lys Lys Lys
 1 5
 5 <210> 290
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <220>
 <221> variante
 <222> (3)..(5)
 <223> puede ser Arg, His, Gln o Asn
 15 <400> 290
Ser Pro Lys Lys Lys
 1 5
 <210> 291
 <211> 5
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 291
Ser Pro Arg Lys His
 1 5
 25 <210> 292
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 292
Ser Pro Arg Lys Lys
 1 5
 <210> 293
 <211> 5
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 293
Ser Pro Arg Lys Arg
 40 1 5
 <210> 294
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 294
Ser Pro Lys Lys His
 1 5
 <210> 295
 <211> 5
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 55 <400> 295

Ser Pro His Lys His
 1 5
 <210> 296
 <211> 5
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 296
Ser Pro Arg Arg His
 1 5
 10 <210> 297
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 297
Ser Pro Arg His His
 1 5
 <210> 298
 <211> 5
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 298
Ser Pro Arg Arg Arg
 1 5
 25 <210> 299
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 299
Ser Pro His His His
 1 5
 35 <210> 300
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 40 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 300
Ser Pro Lys Lys Lys
 1 5
 <210> 301
 <211> 6
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 301
Leu Ser Pro Arg Lys His
 1 5
 50 <210> 302
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 302
Leu Ser Pro Arg Lys Lys
 1 5
 <210> 303
 5 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 10 <400> 303
Leu Ser Pro Arg Lys Arg
 1 5
 <210> 304
 <211> 6
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 304
Leu Ser Pro Lys Lys His
 1 5
 20 <210> 305
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 305
Leu Ser Pro His Lys His
 1 5
 <210> 306
 <211> 6
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 306
Leu Ser Pro Arg Arg His
 1 5
 35 <210> 307
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 307
Leu Ser Pro Arg His His
 1 5
 45 <210> 308
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 50 <400> 308
Leu Ser Pro Arg Arg Arg
 1 5
 <210> 309
 <211> 6
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 309
 Leu Ser Pro His His His
 1 5
 <210> 310
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 310
 Leu Ser Pro Lys Lys Lys
 1 5
 <210> 311
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 311
 Trp Leu Ser Pro Arg Lys His
 1 5
 <210> 312
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 312
 Trp Leu Ser Pro Arg Lys Lys
 1 5
 <210> 313
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 313
 Trp Leu Ser Pro Arg Lys Arg
 1 5
 <210> 314
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 314
 Trp Leu Ser Pro Lys Lys His
 1 5
 <210> 315
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 315
 Trp Leu Ser Pro His Lys His
 1 5
 <210> 316

<211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 316
Trp Leu Ser Pro Arg Arg His
 1 5
 <210> 317
 <211> 7
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 317
Trp Leu Ser Pro Arg His His
 1 5
 15 <210> 318
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 318
Trp Leu Ser Pro Arg Arg Arg
 1 5
 25 <210> 319
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 30 <400> 319
Trp Leu Ser Pro His His His
 1 5
 <210> 320
 <211> 7
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 320
Trp Leu Ser Pro Lys Lys Lys
 40 1 5
 <210> 321
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 321
Ile Thr Pro Lys Arg Arg
 1 5
 50 <210> 322
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 55 <400> 322

Ala Cys His His Lys
 1 5
 <210> 323
 <211> 5
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 323
Val Cys His His Lys
 1 5
 10 <210> 324
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <220>
 <221> variante
 <222> (1)..(2)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 20 <400> 324
Xaa Xaa Arg Lys His
 1 5
 <210> 325
 <211> 5
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <220>
 <221> variante
 30 <222> (1)..(2)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <400> 325
Xaa Xaa Arg Arg Arg
 1 5
 <210> 326
 35 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 40 <220>
 <221> variante
 <222> (1)..(2)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <400> 326
Xaa Xaa Lys Lys Lys
 45 1 5
 <210> 327
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <220>
 <221> variante
 <222> (1)..(2)
 55 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <400> 327

Xaa Xaa His His His
1 5
 5 <210> 328
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <220>
 <221> variante
 10 <222> (1)..(2)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <400> 328
Xaa Xaa Arg Lys Lys
1 5
 15 <210> 329
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <220>
 <221> variante
 <222> (1)..(2)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <400> 329
Xaa Xaa Arg Lys Arg
1 5
 25 <210> 330
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <220>
 <221> variante
 <222> (1)..(2)
 35 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <400> 330
Xaa Xaa Lys Lys His
1 5
 40 <210> 331
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <220>
 45 <221> variante
 <222> (1)..(2)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <400> 331
Xaa Xaa His Lys His
1 5
 50 <210> 332
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 55 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <220>

<221> variante
 <222> (1)..(2)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <400> 332
Xaa Xaa Arg Arg His
 5 **1** **5**
 <210> 333
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <220>
 <221> variante
 <222> (1)..(2)
 15 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <400> 333
Xaa Xaa Arg His His
 1 **5**
 <210> 334
 <211> 5
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <220>
 25 <221> variante
 <222> (3)..(3)
 <223> puede ser Arg, His, Gln o Asn
 <220>
 <221> variante
 30 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <220>
 <221> variante
 <222> (5)..(5)
 35 <223> puede ser Arg, His, Gln o Asn
 <400> 334
Ile Thr Lys Xaa Lys
 1 **5**
 <210> 335
 <211> 5
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <220>
 45 <221> variante
 <222> (3)..(3)
 <223> puede ser Arg, His, Gln o Asn
 <220>
 <221> variante
 50 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <220>
 <221> variante
 <222> (5)..(5)
 55 <223> puede ser Arg, His, Gln o Asn
 <400> 335

Ala Cys Lys Xaa Lys
 1 5
 <210> 336
 <211> 5
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <220>
 <221> variante
 10 <222> (3)..(3)
 <223> puede ser Arg, His, Gln o Asn
 <220>
 <221> variante
 15 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <220>
 <221> variante
 <222> (5)..(5)
 <223> puede ser Arg, His, Gln o Asn
 20 <400> 336
Val Cys Lys Xaa Lys
 1 5
 <210> 337
 <211> 5
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <220>
 <221> variante
 30 <222> (3)..(3)
 <223> puede ser Arg, His, Gln o Asn
 <220>
 <221> variante
 <222> (4)..(4)
 35 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <220>
 <221> variante
 <222> (5)..(5)
 <223> puede ser Arg, His, Gln o Asn
 40 <400> 337
Ser Pro Lys Xaa Lys
 1 5
 <210> 338
 <211> 5
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 338
 Ser Pro Arg Leu His
 50 1 5
 <210> 339
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 55 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 339

Arg Arg Ala Arg Ile Arg Asp Arg Lys
 1 5
 <210> 340
 <211> 9
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 340
Lys Lys Val Lys Val Lys Glu Lys Arg
 1 5
 10 <210> 341
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 341
Arg Arg Leu Arg Leu Arg Asp Arg Lys
 1 5
 <210> 342
 <211> 9
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 342
Arg Arg Gly Arg Gly Arg Asp Arg Lys
 1 5
 25 <210> 343
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Fragmento de péptido Sp35 sintético
 <400> 343
Arg Arg Ile Arg Ala Arg Asp Arg Lys
 1 5
 35 <210> 344
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 40 <223> Cebador directo sintético utilizado para mostrar expresión de Sp35
 <400> 344
 agagacatgc gattggtga 19
 <210> 345
 <211> 21
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador inverso sintético utilizado para mostrar expresión de Sp35
 <400> 345
 agagatgtag acgaggtcat t 21
 50 <210> 346
 <211> 55
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 55 <223> Nucleótido ARNi Sp35 sintético
 <400> 346

ES 2 673 153 T3

5 tgatcgtcat cctgctagac ttcaagagag tctagcagga tgacgatctt ttttc 55
 <210> 347
 <211> 59
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Nucleótido ARNi Sp35 sintético
 <400> 347
 10 tcgagaaaaa agatcgtcat cctgctagac tctcttgaag tctagcagga tgacgatca 59
 <210> 348
 <211> 59
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Nucleótido ARNi Sp35 sintético
 <400> 348
 15 tgatcctcat cctctatac ttcaagagag tctagcagga tgacgatctt ttttctcga 59
 <210> 349
 <211> 59
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Nucleótido ARNi Sp35 sintético
 <400> 349
 25 tcgagaaaaa agatcgtcat cctgctagac tctcttgaag tatagaagga tgacgatca 59
 <210> 350
 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Cebador sintético utilizado para amplificar Sp35 de longitud completa de ratón
 <400> 350
 gaggatctcg acgcgccgc atggagacag acacactct g 41
 <210> 351
 35 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador sintético utilizado para amplificar Sp35 de longitud completa de ratón
 40 <400> 351
 gggcggaat tggatcctca cagatcctct tctgagatga g 41
 <210> 352
 <211> 41
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador sintético utilizado para amplificar Sp35 dominante negativo
 <400> 352
 gaggatctcg acgcgccgc atggagacag acacactct g 41
 50 <210> 353
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 55 <223> Cebador sintético utilizado para amplificar Sp35 dominante negativo
 <400> 353
 gatacggatc ctcagccttt gccccggctc catagaaaca gc 42
 <210> 354
 <211> 37
 60 <212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador sintético utilizado para obtener secuencia codificadora parcial para Sp35 humano
 <400> 354
 5 cagcaggtcg acgcggccgc atgctggcgg ggggcgt 37
 <210> 355
 <211> 59
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Cebador sintético utilizado para obtener secuencia codificadora parcial para Sp35 humano
 <400> 355
 cagcaggtcg acctcgcccg gctggtggc caaccagccg ggcgaggtcg acctcgagg 59
 <210> 356
 15 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador sintético utilizado para determinar la secuencia de la cadena ligera del P1E11.3B7
 20 <400> 356
 ggggatatcc accatggatt ttcaggtgca gatttcag 39
 <210> 357
 <211> 40
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador sintético utilizado para determinar la secuencia de la cadena ligera del P1E11.3B7
 <400> 357
 30 ggggatatcc accatgragt cacakacyca ggtcttyrta 40
 <210> 358
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Cebador sintético utilizado para determinar la secuencia de la cadena ligera del P1E11.3B7
 <400> 358
 ggggatatcc accatgaagt tgcctgtag gctgttg 37
 <210> 359
 <211> 40
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador sintético utilizado para determinar la secuencia de la cadena ligera del P1E11.3B7
 <400> 359
 45 ggggatatcc accatgaggk cccwgtca gtyctkga 40
 <210> 360
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Cebador sintético utilizado para determinar la secuencia de la cadena pesada del P1E11.3B7
 <400> 360
 ggggatatcc accatggrat gsagctgkgt matsctct 39
 <210> 361
 55 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador sintético utilizado para determinar la secuencia de la cadena pesada del P1E11.3B7
 <400> 361
 60

ggggatatcc accatgract tcggytgag ctkggttt 39
 <210> 362
 <211> 38
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador sintético utilizado para determinar la secuencia de la cadena pesada del P1E11.3B7
 <400> 362
 10 ggggatatcc accatggctg tcttgggct gctcttct 38
 <210> 363
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Cebador sintético utilizado para determinar la secuencia de la cadena pesada del P1E11.3B7
 <400> 363
 aggtctagaa yctccacaca cagrrccag tggatagac 39
 <210> 364
 <211> 22
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador sintético universal de cadena pesada
 <400> 364
 25 aggtsmarct gcagsagtcw gg 22
 <210> 365
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Cebador sintético universal de cadena pesada
 <400> 365
 tgaggagacg gtgaccgtgg tccttgcc ccag 34
 <210> 366
 35 <211> 28
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador sintético de secuencia señal degenerado
 40 <220>
 <221> variación
 <222> (21)..(21)
 <223> n puede ser a, g, c, t, o u
 <220>
 45 <221> variación
 <222> (24)..(24)
 <223> n puede ser a, g, c, t, o u
 <400> 366
 atggartgya aytggathct ncnntya 28
 50 <210> 367
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 55 <223> Cebador sintético de dominio constante
 <400> 367
 aggtctagaa yctccacaca cagrrccag tggatagac 39
 <210> 368
 <211> 66
 60 <212> ADN

ES 2 673 153 T3

	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Cebador sintético utilizado para amplificar MOG en rata	
	<400> 368	
	ggggatatctc tcgagaaaag agagcatcat catcatcatc atatgggaca gttcagagtg	60
5	ataggg	66
	<210> 369	
	<211> 40	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Cebador sintético utilizado para amplificar MOG en rata	
	<400> 369	
	ttcgcgcccg ctattagcca gggttgatcc agtagaaggg 40	
15	<210> 370	
	<211> 354	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
20	<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li13	
	<400> 370	
	gaagttcaat tgtagagtc tgggtggcggg cttgttcagc ctggtgggtc tttacgtctt	60
	tcttgcgctg cttccggatt cactttctct cattacgaga tgtattgggt tcgccaagct	120
	cctggtaaag gtttggagtg ggtttctcgt atcgtttctt ctggtggctt tactaagtat	180
	gctgactccg ttaaaggctg cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac	240
	ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc aacagagggt	300
	gataatgatg cttttgatat ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtctc aagc	354
	<210> 371	
	<211> 324	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li13	
	<400> 371	
	gacatccaga tgaccagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc	60
	ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agctacttag cctggtacca acagaaacct	120
	ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc	180
	aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct	240
	gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggccgatgta cacttttggc	300
	caggggacca agctggagat caaa	324
30	<210> 372	
	<211> 118	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
35	<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li13	
	<400> 372	

ES 2 673 153 T3

Glu Val Gln Leu Leu 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 His Tyr
20 25 30

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

Ser Arg Ile Val Ser Ser Gly Gly Phe Thr Lys 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 Thr Glu Gly Asp Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

- <210> 373
- <211> 108
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li13
- <400> 373

Asp Ile Gln Met 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 Tyr
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Met
85 90 95

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

- <210> 374
- <211> 354
- <212> ADN

5

10

ES 2 673 153 T3

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li32
 <400> 374
 gaagttcaat tgtagagtc tgggtggcggc cttgttcagc ctggtgggtc tttacgtctt 60
 tcttgcgctg cttccggatt cactttctct gcttacatga tgcagtgggt tcgccaagct 120
 cctggtaaag gtttggagtg ggtttcttct atctctcctt ctggtggcaa tactaagtat 180
 gctgactccg ttaaaggctg cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240
 ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggagat 300
 5 tatggatact ggttcgacct ctggggccag ggcaccctgg tcaccgtctc aagc 354
 <210> 375
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li32
 <400> 375
 gacatccaga tgaccagtc tccagactcc ctgtctgcat ctggttgaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtca agacattagc tactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggatggccc ctaaaactct catctacgat gccttcattt tggaaggagg ggccccatca 180
 cggttcagtg ggagcggctc tgggacagat ttttctttca ccatcagcaa tctacagcct 240
 gaggatattg caacttattt ctgtcaacag tctgatcaac tgcccgtgac cttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaatcag a 321
 15 <210> 376
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li32
 20 <400> 376

ES 2 673 153 T3

Glu Val Gln Leu Leu 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 Ala Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gly Asn Thr Lys 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 Asp Tyr Gly Tyr Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 377

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li32

<400> 377

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

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

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

Tyr Asp Ala Phe Ile Leu Glu Gly Gly Ala Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 378

<211> 357

<212> ADN

5

10

ES 2 673 153 T3

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li33
 <400> 378
 gaagttcaat tgtagagtc tgggtggcggc cttgttcagc ctggtgggtc tttacgtctt 60
 tcttgcgctg cttccggatt cactttctct atttaccta tgttttgggt tcgccaagct 120
 cctggtaaag gtttggagtg ggtttcttgg atcggtcctt ctggtggcat tactaagtat 180
 gctgactccg ttaaaggctg cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240
 ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acagccacat attactgtgc gagagagggg 300
 5 cataacgact ggtacttcga tctctggggc cgtggcaccc tggtcaccgt ctcaagc 357
 <210> 379
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li33
 <400> 379
 gacatccaga tgaccagtc tocaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agctacttag cctggtacca acagaaacct 120
 ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
 gaggattttg cagtttatta ctgtcagcag tatgataagt ggccgctcac tttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321
 15 <210> 380
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li33
 20 <400> 380
 Glu Val Gln Leu Leu 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 Ile Tyr

ES 2 673 153 T3

20 25 30

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

Ser Trp Ile Gly Pro Ser Gly Gly Ile Thr Lys 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 Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Gly His Asn Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 381

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li33

<400> 381

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Gly 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 Tyr
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Lys Trp Pro Leu
85 90 95

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

10 <210> 382

<211> 357

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li34

ES 2 673 153 T3

<400> 382
 gaagttcaat tgtagagtc tggtagcggc cttgttcagc ctggtgggtc tttacgtcct 60
 tcttgcgctg cttccggatt cactttctct aattacgaga tgtattgggt tcgccaagct 120
 cctggtaaaag gtttggagtg ggtttctggt atctattcct ctggtggcat tactgtttat 180
 gctgactccg ttaaaggctg cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240
 ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggcctgt attactgtgc tagggcagcc 300
 atcctcgact ggtacttcca tctctggggc cgtggcacc cggtcaccgt ctcaagc 357
 <210> 383
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li34
 <400> 383
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc atgcgagtcg ggacattagc aactatttaa gttggtatca gcagaaacca 120
 ggtaaagccc ctaaactcct gatctacgat gctttcaatt tggagacagg agtcccacgc 180
 aggttcagtg gaagtggatc tggcacagat tttacattca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacatatta ctgtcagcac tatgataatc tcccattcac tttcggccct 300
 10 gggaccagag tggcgatcag a 321
 <210> 384
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li34
 <400> 384
 Glu Val Gln Leu Leu 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 Asn Tyr
 20 25 30
 Glu Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

ES 2 673 153 T3

Ser Gly Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ile Thr Val 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 Ala Ala Ile Leu Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 385

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li34

<400> 385

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Tyr Asp Ala Phe Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Val Ala Ile Arg
100 105

10 <210> 386

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li13 que codifica VL-CDR1

<400> 386

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

<210> 387

<211> 7

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li13 que codifica VL-CDR2
 <400> 387
Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
 1 5
 5 <210> 388
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li13 que codifica VL-CDR3
 <400> 388
Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Met Tyr Thr
 1 5 10
 <210> 389
 <211> 5
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li13 que codifica VH-CDR1
 <400> 389
His Tyr Glu Met Tyr
 1 5
 20 <210> 390
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li13 que codifica VH-CDR2
 <400> 390
Arg Ile Val Ser Ser Gly Gly Phe Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly
 30 <210> 391
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li13 que codifica VH-CDR3
 <400> 391
Glu Gly Asp Asn Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5
 <210> 392
 <211> 11
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li32 que codifica VL-CDR1
 <400> 392
Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Tyr Tyr Leu Asn
 1 5 10
 45 <210> 393
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 50 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li32 que codifica VL-CDR2
 <400> 393

Asp Ala Phe Ile Leu Glu Gly
 1 5
 <210> 394
 <211> 9
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li32 que codifica VL-CDR3
 <400> 394
Gln Gln Ser Asp Gln Leu Pro Val Thr
 1 5
 10 <210> 395
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li32 que codifica VH-CDR1
 <400> 395
Ala Tyr Met Met Gln
 1 5
 <210> 396
 <211> 17
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li32 que codifica VH-CDR2
 <400> 396
Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 25 Gly
 <210> 397
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li32 que codifica VH-CDR3
 <400> 397
Gly Asp Tyr Gly Tyr Trp Phe Asp Pro
 1 5
 <210> 398
 <211> 11
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li33 que codifica VL-CDR1
 <400> 398
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10
 <210> 399
 <211> 7
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li33 que codifica VL-CDR2
 <400> 399
Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
 50 1 5
 <210> 400

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li33 que codifica VL-CDR3
 <400> 400
Gln Gln Tyr Asp Lys Trp Pro Leu Thr
 1 5
 <210> 401
 <211> 5
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li33 que codifica VH-CDR1
 <400> 401
Ile Tyr Pro Met Phe
 1 5
 <210> 402
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li33 que codifica VH-CDR2
 <400> 402
Trp Ile Gly Pro Ser Gly Gly Ile Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

 Gly
 <210> 403
 25 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li33 que codifica VH-CDR3
 <400> 403
Glu Gly His Asn Asp Trp Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 <210> 404
 <211> 11
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li34 que codifica VL-CDR1
 <400> 404
His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Ser
 1 5 10
 40 <210> 405
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li34 que codifica VL-CDR2
 <400> 405
Asp Ala Phe Asn Leu Glu Thr
 1 5
 <210> 406
 <211> 9
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

ES 2 673 153 T3

<223> Secuencia sintética de anticuerpo Li34 que codifica VL-CDR3
 <400> 406
 Gln His Tyr Asp Asn Leu Pro Phe Thr
 1 5
 <210> 407
 5 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li34 que codifica VH-CDR1
 10 <400> 407
 Asn Tyr Glu Met Tyr
 1 5
 <210> 408
 <211> 17
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li34 que codifica VH-CDR2
 <400> 408
 Gly Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ile Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 20 1 5 10 15

 Gly
 <210> 409
 <211> 10
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li34 que codifica VH-CDR3
 <400> 409
 Ala Ala Ile Leu Asp Trp Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10
 30 <210> 410
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3B5.2 que codifica VH-CDR1
 <400> 410
 Ser Tyr Trp Met His
 1 5
 <210> 411
 <211> 17
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3B5.2 que codifica VH-CDR2
 <400> 411
 Val Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Arg
 1 5 10 15

 45 Gly
 <210> 412
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>

ES 2 673 153 T3

<223> Secuencia sintética de anticuerpo 3B5.2 que codifica VH-CDR3
 <400> 412
 Pro Tyr Tyr Gly Ser His Trp Phe Phe Asp Val
 1 5 10
 <210> 413
 5 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3B5.2 que codifica VL-CDR1
 10 <400> 413
 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Tyr Val His
 1 5 10
 <210> 414
 <211> 7
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3B5.2 que codifica VL-CDR2
 <400> 414
 Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser
 1 5
 20 <210> 415
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3B5.2 que codifica VL-CDR3
 <400> 415
 Gln Gln Trp Ser Thr Asn Pro Pro Thr
 1 5
 <210> 416
 <211> 120
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia de cadena pesada variable 3B5.2 sintética
 <400> 416
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr
 1 5 10 15

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

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

ES 2 673 153 T3

Gly Val Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Pro Tyr Tyr Gly Ser His Trp Phe Phe Asp Val Trp Gly Thr
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 417

<211> 106

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable 3B5.2

<400> 417

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Tyr Val
20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Thr Asn Pro Pro Thr
85 90 95

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

<210> 418

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia consenso sintética de cadena ligera kappa murina y humana

<400> 418

Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1 5

<210> 419

<211> 106

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 673 153 T3

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable 3B5.2 mutante

<400> 419

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Tyr Val
20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Thr Asn Pro Pro Thr
85 90 95

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

5

<210> 420

<211> 1404

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

10

<223> Secuencia sintética de anticuerpo 3B5.2 quimérico humano y murino

<400> 420

atgggatgga gctgtgtaat gctcttgta tcaacagcta caggtgtcca ctcccaggtc 60

caactgcagc agcctggggc tgagctggtg aggcctggga cttcagtga gttgtcctgc 120

agggcttctg gctacacctt caccagctac tggatgcact gggtaaagca gaggcctgga 180

caaggccttg agtggatcgg agtgattgat ccttctgata gttatactaa ctacaatcaa 240

aagttcaggg gcaaggccac attgactgta gacacatcct ccagcacagc ctacatgcag 300

ES 2 673 153 T3

ctcagcagcc tgacatctga ggactctgcg gtctattact gtgcaagacc ttactacggt 360
 agtcactggg tcttogatgt ctggggcaca gggaccacgg tcaccgtctc ctcagcctcc 420
 accaagggcc catcgggtctt cccctctgca ccctcctcca agagcacctc tgggggcaca 480
 gcgggcctgg gctgctgggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 540
 tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttccccggtg tcctacagtc ctcaggactc 600
 tactccctca gcagcgtggg gaccgtgccc tccagcagct tgggcacca gacctacatc 660
 tgcaactgga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agaaagtga gcccaaatct 720
 tgtgacaaga ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 780
 gtcttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac ccctgaggtc 840
 acatgcgtgg tggtagcgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 900
 gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgctgg aggagcagta caacagcacg 960
 taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 1020
 aagtgcgaag tctccaacaa agccctcca gccccatcg agaaaacat ctccaagcc 1080
 aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga tgagctgacc 1140
 aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggttct atccagcga catcgccgtg 1200
 gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgttggac 1260
 tccgacggct ccttcttct ctacagcaag ctaccctggg acaagagcag gtggcagcag 1320
 gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctc acaaccacta cacgcagaag 1380
 agcctctccc tgtctcccgg ttga 1404
 <210> 421
 <211> 708
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3B5.2 quimérico humano y murino
 <400> 421
 atggattttc aggtgcagat tttcagcttc ctgctaatca gtgcctcagt cataatatcc 60
 agaggacaaa ttgttctcac ccagtctcca gcaatcatgt ctgcatctcc aggggagaag 120
 gtcaccatga cctgcagtgc cagctcacgt gtaagttacg tgactggta ccagcagaag 180
 tcaggcacct cccccaaaag atggctttat gacacatcca acctggcttc tggagtccct 240
 gctcgcttgc gtggcaatgg gtctgggacc tcttactctc tcacaatcag cagcatggag 300
 gctgaagatg ctgccactta ttactgccag cagtggagta ctaaccacc cacgttcgga 360
 ggggggacca agctggaaat aaaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 420
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 480
 tateccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaate gggtaactcc 540

5

10

ES 2 673 153 T3

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccoctg 600
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 660
 ggccctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtggttag 708
 <210> 422
 <211> 360
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable 3B5.2
 <400> 422
 caggtccaac tgcagcagcc tggggctgag ctggtgaggc ctgggacttc agtgaagttg 60
 tcctgcaggg cttctggcta caccttcacc agctactgga tgcactgggt aaagcagagg 120
 cctggacaag gccttgagtg gatcggagtg attgatcctt ctgatagtta tactaactac 180
 aatcaaaagt tcaggggcaa ggccacattg actgtagaca catcctccag cacagcctac 240
 atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggctt attactgtgc aagaccttac 300
 10 tacggtagtc actggttctt cgatgtctgg ggcacagga ccacggtcac cgtctcctca 360
 <210> 423
 <211> 318
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Secuencia sintética de cadena ligera variable 3B5.2
 <400> 423
 caaattgttc tcaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaagtcacc 60
 atgacctgca gtgccagctc acgtgtaagt tacgtgcact ggtaccagca gaagtcagggc 120
 acctccccc aaagatggct ttatgacaca tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc 180
 ttcggtggca atgggtctgg gacctctac tctctcacia tcagcagcat ggaggctgaa 240
 gatgctgcc cttattactg ccagcagtgg agtactaacc caccacggt cggagggggg 300
 accaagctgg aaataaaa 318
 <210> 424
 <211> 15
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3B5.2 que codifica VH-CDR1
 <400> 424
 25 agctactgga tgcac 15
 <210> 425
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3B5.2 que codifica VH-CDR2
 <400> 425
 gtgattgac cttctgatag ttactaac tacaatcaa agttcagggg c 51
 <210> 426
 35 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

ES 2 673 153 T3

<223> Secuencia sintética de anticuerpo 3B5.2 que codifica VH-CDR3
 <400> 426
 ccttactacg gtagtcaactg gttcttcgat gtc 33
 <210> 427
 5 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3B5.2 que codifica VL-CDR1
 10 <400> 427
 agtgccagct cacgtgtaag ttacgtgcac 30
 <210> 428
 <211> 21
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3B5.2 que codifica VL-CDR2
 <400> 428
 gacacatcca acctggcttc t 21
 20 <210> 429
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Secuencia sintética de anticuerpo 3B5.2 que codifica VL-CDR3
 <400> 429
 cagcagtgga gtactaaccc acccacg 27
 <210> 430
 <211> 106
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Variante de cadena ligera sintética 1
 <400> 430
 Glu 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 Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30

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

 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

 Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
 65 70 75 80

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

 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 35 <210> 431
 <211> 106

ES 2 673 153 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Variante de cadena ligera sintética 2
 5 <400> 431
 Gln 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 Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Arg Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 432
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Variante de cadena pesada sintética 2
 15 <400> 432

ES 2 673 153 T3

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

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

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45

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

Gln Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Ala Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Met Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

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

Thr Val Ser Ser
 115

<210> 433

<211> 447

<212> PRT

5

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li81

<400> 433

Glu Val Gln Leu Leu 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 Ala Tyr
 20 25 30

10

ES 2 673 153 T3

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

ES 2 673 153 T3

290

295

300

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

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

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

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

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

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

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

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

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

<210> 434

<211> 215

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li81

<400> 434

Asp Ile Gln Met 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 Tyr
20 25 30

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

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

10

ES 2 673 153 T3

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Met
85 90 95

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

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 435

<211> 447

<212> PRT

5

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable aglicosilada Li81

<400> 435

Glu Val Gln Leu Leu 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 Ala Tyr
20 25 30

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

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

10

ES 2 673 153 T3

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 Thr Glu Gly Asp Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Ala Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320

ES 2 673 153 T3

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

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

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

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

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

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415

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

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

<210> 436

<211> 5

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de anticuerpo Li81 que codifica VH-CDR1

<400> 436

Ala Tyr Glu Met Lys

1 5

10 <210> 437

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li81 que codifica VH-CDR2

<400> 437

Val Ile Gly Pro Ser Gly Gly Phe Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 438

<211> 9

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de anticuerpo Li81 que codifica VH-CDR3

<400> 438

Glu Gly Asp Asn Asp Ala Phe Asp Ile

25 1 5

<210> 439

<211> 15

<212> ADN

ES 2 673 153 T3

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li81 que codifica VH-CDR1
 <400> 439
 5 gcttacgaga tgaag 15
 <210> 440
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li81 que codifica VH-CDR2
 <400> 440
 gttatcggtc cttctggg cttactttt tatgctgact ccgtaaagg t 51
 <210> 441
 15 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li81 que codifica VH-CDR3
 20 <400> 441
 gagggtgata atgatgcttt tgatac 27
 <210> 442
 <211> 11
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li81 que codifica VL-CDR1
 <400> 442
 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10
 30 <210> 443
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li81 que codifica VL-CDR2
 <400> 443
 Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
 1 5
 <210> 444
 <211> 10
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li81 que codifica VL-CDR3
 <400> 444
 Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Met Tyr Thr
 45 1 5 10
 <210> 445
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li81 que codifica VL-CDR1
 <400> 445
 aggccagtc agagtgttag cagctactta gcc 33
 <210> 446
 55 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

ES 2 673 153 T3

<220>
 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li81 que codifica VL-CDR2
 <400> 446
 gatgcatcca acagggccac t 21
 5 <210> 447
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Secuencia sintética de anticuerpo Li81 que codifica VL-CDR3
 <400> 447
 cagcagcgta gcaactggcc gatgtacact 30
 <210> 448
 <211> 1341
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable Li81
 <400> 448
 gaagtacaat tgttagagtc tgggtggcggc cttgttcagc ctgggtggctc tttacgtctt 60
 tcttgcgctg cttccggatt cactttctct gcttacgaga tgaagtgggt tcgccaagct 120
 cctggtaaaag gtttggagtg ggtttctggt atcggctcct ctgggtggctt tactttttat 180
 gctgactccg ttaaaggctc cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240
 ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc aacagagggc 300
 gataatgatg cttttgatat ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtctc aagcgcctcc 360
 accaagggcc catcggctct cccctcggca cctcctcca agagcacctc tgggggcaca 420
 gcgccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cgggtgacggg gtcgtggaac 480
 tcaggcgcctc tgaccagcgg cgtgcacacc ttccccggctg tcctacagtc ctcaggactc 540
 tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc 600
 tgcaactgta atcacaagcc cagcaacacc aagtgggaca agaaagtga gcccaaatct 660
 tgtgacaaga ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 720
 gtcttctct tcccccaaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac ccctgaggtc 780
 acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 840
 gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagcccgggg aggagcagta caacagcacg 900
 taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 960
 aagtgaagg tctccaaca agccctcca gccccatcg agaaaacct ctccaagcc 1020
 aaagggcagc ccgagaacc acaggtgtac accctgccc catcccggga tgagctgacc 1080
 aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgcctg 1140
 gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgttggac 1200
 tccgacggct ccttcttct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1260
 gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctc acaaccacta cacgcagaag 1320
 20 agcctctccc tgtctcccgg t 1341

ES 2 673 153 T3

<210> 449
 <211> 648
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena ligera variable Li81
 <400> 449
 gatatccaga tgaccocagtc tccagccacc ctgtctttgt ctocagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc agctacttag cctggtacca acagaaacct 120
 ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggccgatgta cacttttggc 300
 caggggacca agctggagat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctcg 540
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600
 10 ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtggttag 648
 <210> 450
 <211> 1341
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable aglicosilada Li81
 <400> 450

ES 2 673 153 T3

gaagtacaat tgtagagtc tggtagcgt cttgttcagc ctggtggttc tttacgtctt 60
 tcttgcgctg cttccggatt cactttctct gcttacgaga tgaagtgggt tcgccaagct 120
 cctggtaaag gtttgagtg ggtttctgtt atcggctcct ctggtggtt tactttttat 180
 gctgactccg ttaaaggtcg cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240
 ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc aacagagggt 300
 gataatgatg cttttgatat ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtctc aagcgctcc 360
 accaagggcc catcggctct cccctggca ccctctcca agagcacctc tgggggcaca 420
 gcgccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtagcgggt gtcgtggaac 480
 tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttccccgctg tcttacagtc ctcaggactc 540
 tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcacca gacctacatc 600
 tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aagtgagaca agaaagtga gcccaaatct 660
 tgtgacaaga ctacacatg cccaccgtgc ccagcaactg aactcctggg gggaccgtca 720
 gtcttctct tcccccaaa acccaaggac acctcatga tctcccggac ccctgaggtc 780
 acatgcgtgg tggtagcgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 840
 gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagcccgggg aggagcagta caacagcgcg 900
 taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 960
 aagtgcagg tctccaacaa agccctccca gcccccctcg agaaaacct ctccaagcc 1020
 aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac acctgcccc catcccggga tgagctgacc 1080
 aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atccagcga catcgccgtg 1140
 gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgttgac 1200
 tccgacggct ccttcttct ctacagcaag ctaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1260
 gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctg acaaccacta cagcagaag 1320
 agcctctccc tgtctcccg t 1341
 <210> 451
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética de cadena ligera variable subgrupo kappa 6 murina
 <400> 451

5

10

ES 2 673 153 T3

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro
85 90

<210> 452

<211> 96

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable subgrupo HVMS murina

<400> 452

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

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

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

10

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

Gln Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Phe Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

<210> 453

<211> 96

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia consenso sintética murina

<220>

<221> variante

20

<222> (2)..(2)

<223> puede ser Val

<220>

<221> variante

<222> (54)..(54)

ES 2 673 153 T3

<223> puede ser Glu
 <220>
 <221> variante
 <222> (61)..(61)
 5 <223> puede ser Ala
 <220>
 <221> variante
 <222> (62)..(62)
 10 <223> puede ser Asp
 <220>
 <221> variante
 <222> (65)..(65)
 <223> puede ser Lys
 <220>
 15 <221> variante
 <222> (79)..(79)
 <223> puede ser Ala
 <220>
 <221> variante
 <222> (83)..(83)
 20 <223> puede ser Ile
 <400> 453
 Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15

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

 Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45

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

 Gln Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

 Leu Gln Phe Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
 25 85 90 95
 <210> 454
 <211> 96
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Línea germinal VGK6 murina
 <400> 454

ES 2 673 153 T3

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

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

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

<210> 455

<211> 94

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena ligera variable subgrupo kappa 3 humana

<400> 455

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

10

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro
85 90

<210> 456

<211> 95

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia consenso sintética

<220>

<221> Variante

20

<222> (10)..(10)

<223> puede ser Thr

<220>

<221> variante

<222> (11)..(11)

25

<223> puede ser Leucina

<220>
 <221> Variante
 <222> (13)..(13)
 <223> puede ser Leu
 5 <220>
 <221> Variante
 <222> (18)..(18)
 <223> puede ser Arg
 <220>
 10 <221> Variante
 <222> (19)..(19)
 <223> puede ser Ala
 <220>
 <221> Variante
 15 <222> (21)..(21)
 <223> puede ser Leu
 <220>
 <221> Variante
 <222> (22)..(22)
 20 <223> puede ser Ser
 <220>
 <221> Variante
 <222> (24)..(24)
 <223> puede ser Arg
 25 <220>
 <221> Variante
 <222> (27)..(27)
 <223> puede ser Gln
 <220>
 30 <221> Variante
 <222> (31)..(31)
 <223> puede estar ausente
 <220>
 <221> Variante
 35 <222> (33)..(33)
 <223> puede ser Leu
 <220>
 <221> Variante
 <222> (34)..(34)
 40 <223> puede ser Ala
 <220>
 <221> Variante
 <222> (40)..(40)
 <223> puede ser Pro
 45 <220>
 <221> Variante
 <222> (42)..(42)
 <223> puede ser Gln
 <220>
 50 <221> Variante
 <222> (43)..(43)
 <223> puede ser Ala
 <220>
 <221> Variante
 <222> (45)..(45)
 55 <223> puede ser Arg
 <220>
 <221> Variante
 <222> (46)..(46)
 60 <223> puede ser Leu

<220>
 <221> Variante
 <222> (47)..(47)
 <223> puede ser Leu
 5 <220>
 <221> Variante
 <222> (51)..(51)
 <223> puede ser Ala
 <220>
 10 <221> Variante
 <222> (53)..(53)
 <223> puede ser Asn
 <220>
 <221> Variante
 15 <222> (54)..(54)
 <223> puede ser Arg
 <220>
 <221> Variante
 <222> (56)..(56)
 20 <223> puede ser Thr
 <220>
 <221> Variante
 <222> (58)..(58)
 <223> puede ser Ile
 25 <220>
 <221> Variante
 <222> (70)..(70)
 <223> puede ser Asp
 <220>
 30 <221> Variante
 <222> (71)..(71)
 <223> puede ser Phe
 <220>
 <221> Variante
 35 <222> (72)..(72)
 <223> puede ser Thr
 <220>
 <221> Variante
 <222> (78)..(78)
 40 <223> puede ser Leu
 <220>
 <221> Variante
 <222> (80)..(80)
 <223> puede ser Pro
 45 <220>
 <221> Variante
 <222> (83)..(83)
 <223> puede ser Phe
 <220>
 50 <221> Variante
 <222> (85)..(85)
 <223> puede ser Val
 <220>
 <221> Variante
 <222> (91)..(91)
 55 <223> puede ser Arg
 <220>
 <221> Variante
 <222> (93)..(93)
 60 <223> puede ser Asn

ES 2 673 153 T3

<220>
 <221> Variante
 <222> (94)..(94)
 <223> puede ser Trp
 5 <400> 456
 Glx Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
 1 5 10 15

 Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

 Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile
 35 40 45

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

 Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala
 65 70 75 80

 Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro
 85 90 95
 <210> 457
 <211> 95
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Línea germinal L6 humana
 <400> 457
 Glu 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 Tyr
 20 25 30

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

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

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

 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro
 85 90 95
 15 <210> 458
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Secuencia sintética de cadena pesada variable subgrupo MHV1 humana
 <400> 458

ES 2 673 153 T3

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

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

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45

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

Gln Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Phe Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 459

<211> 98

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia consenso sintética

<220>

<221> variante

10 <222> (9)..(9)

<223> puede ser His

<220>

<221> variante

15 <222> (11)..(11)

<223> puede ser Val

<220>

<221> variante

<222> (13)..(13)

20 <223> puede ser Gln

<220>

<221> variante

<222> (16)..(16)

<223> puede ser Ala

<220>

25 <221> variante

<222> (17)..(17)

<223> puede ser Ser

<220>

<221> variante

30 <222> (20)..(20)

<223> puede ser Val

<220>

<221> variante

<222> (28)..(28)

35 <223> puede ser Ser

<220>

<221> variante

<222> (31)..(31)

<223> puede ser Thr
 <220>
 <221> variante
 <222> (38)..(38)
 5 <223> puede ser Pro
 <220>
 <221> variante
 <222> (43)..(43)
 10 <223> puede ser Gln
 <220>
 <221> variante
 <222> (46)..(46)
 <223> puede ser Glu
 <220>
 15 <221> variante
 <222> (51)..(51)
 <223> puede ser Phe
 <220>
 <221> variante
 <222> (54)..(54)
 20 <223> puede ser Tyr
 <220>
 <221> variante
 <222> (57)..(57)
 25 <223> puede ser Arg
 <220>
 <221> variante
 <222> (61)..(61)
 <223> puede ser Ala
 30 <220>
 <221> variante
 <222> (63)..(63)
 <223> puede ser Gly
 <220>
 35 <221> variante
 <222> (65)..(65)
 <223> puede ser Thr
 <220>
 <221> variante
 <222> (69)..(69)
 40 <223> puede ser Val
 <220>
 <221> variante
 <222> (72)..(72)
 45 <223> puede ser Met
 <220>
 <221> variante
 <222> (73)..(73)
 <223> puede ser Asp
 50 <220>
 <221> variante
 <222> (79).. (79)
 <223> puede ser Ala
 <220>
 55 <221> variante
 <222> (83)..(83)
 <223> puede ser Ile
 <220>
 <221> variante
 <222> (84)..(84)
 60

ES 2 673 153 T3

<223> puede ser Ser
 <220>
 <221> variante
 <222> (85)..(85)
 5 <223> puede ser Ser
 <220>
 <221> variante
 <222> (88)..(88)
 10 <223> puede ser Ala
 <220>
 <221> variante
 <222> (91)..(91)
 <223> puede ser Met
 <220>
 15 <221> variante
 <222> (93)..(93)
 <223> puede ser Met
 <220>
 <221> variante
 <222> (95)..(95)
 20 <223> puede ser Tyr
 <400> 459
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15

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

 Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45

 Gly Trp Ile Asn Thr Asp Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Thr Glx Asp Phe
 50 55 60

 Gln Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

 Leu Gln Phe Arg Arg Leu Lys Arg Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95

 25 Ala Arg
 <210> 460
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Línea germinal huVH7-81 humana
 <400> 460

ES 2 673 153 T3

atggactgga cctggagggt cttctgcttg ctggctgtag caccagggtgc cactcccag 60
 gtccaactgg tacagtctgg acacgagggtg aagcagcctg gagcatcagt caaggtctcc 120
 tgcaaggcct ctgggtatac cttcacaac tatggaatga actgggtgaa gcaggctcct 180
 ggacaaggtt taaagtggat gggctggata aacaccgaca ctggagagcc aacatatact 240
 gaagatttcc agggacgggtt tgtcttctct ttggacacct ctgccagcac tgtttatttg 300
 cagatcagca gcctcaaagc tgaggacatg gcaatgtatt actgtgcaag agagggggtc 360
 cactttgact actggggcca agggaccctt gtcaccgtct cctcagcctc caccaagggc 420
 ccatcggtct tccccctggc accctcctcc aagagcacct ctggggggcac agcggccctg 480
 ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtgaa ctcaggcgcc 540
 ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccggt gtcctacagt cctcaggact ctactccctc 600
 agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 660
 aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaagttg agcccaaadc ttgtgacaag 720
 actcacacat gccaccgtg cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttctc 780
 ttcccccaa aacccaagga caccctcatg atctccgga cccctgaggt cacatgctg 840
 gtgggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 900
 gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 960
 gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 1020
 gtctccaaca aagccctccc agccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1080
 ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatccggg atgagctgac caagaaccag 1140
 gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1200
 agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtggtgga ctccgacggc 1260
 tccttcttcc tctacagcaa gtcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1320
 ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1380
 ctgtctcccg gttga 1395

<210> 462

<211> 464

<212> PRT

5

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de cadena pesada huP1A7 H2 humana

<400> 462

Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly
 1 5 10 15

Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly His Glu Val Lys Gln
 20 25 30

10

ES 2 673 153 T3

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

ES 2 673 153 T3

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
290 295 300

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
305 310 315 320

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
325 330 335

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
340 345 350

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
355 360 365

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
370 375 380

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
385 390 395 400

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
405 410 415

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
420 425 430

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
435 440 445

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
450 455 460

<210> 463

<211> 708

<212> ADN

5

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de cadena ligera kappa huP1A7 L1 humana

<400> 463

atggattttc aggttcagat tttcagcttc ctgctaataca gtgcctcagt cataatatcc 60

agaggagaaa ttgttctcac ccagtctcca gcaaccttgt ctttatctcc aggggagaga 120

gccaccttgt cctgcagtgc cagctcaagt gtaagttaca tgcactgta ccagcagaag 180

ccaggccaag cgcccagaag actgatttat gacacatcca aactggcttc tggaatccct 240

gctcgcttca gtggcagtgg gtctgggacc gattacactc tcaccatcag cagcttggag 300

cctgaagatt tcgcogttta ttactgccag cagtggagta gtaaccatt cacgttoggc 360

10

ES 2 673 153 T3

caggggacaa aggtggaat aaaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 420
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 480
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 540
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 600
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 660
 ggccctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtggttag 708

<210> 464

<211> 235

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de cadena ligera huP1A7 L1 humana

<400> 464

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
 1 5 10 15

Val Ile Ile Ser Arg Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr
 20 25 30

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser
 35 40 45

Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
 50 55 60

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

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile
 85 90 95

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp
 100 105 110

Ser Ser Asn Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 115 120 125

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 130 135 140

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

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

5

10

ES 2 673 153 T3

Val Ile Ile Ser Arg Gly Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr
 20 25 30
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser
 35 40 45
 Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
 50 55 60
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro
 65 70 75 80
 Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile
 85 90 95
 Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp
 100 105 110
 Ser Ser Asn Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 115 120 125
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 130 135 140
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 145 150 155 160
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 165 170 175
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 180 185 190
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 195 200 205
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 210 215 220
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235
 <210> 467
 <211> 708
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia de cadena ligera kappa chP1A7 quimérica humana y murina
 <400> 467

5

ES 2 673 153 T3

atggattttc aggtgcagat tttcagcttc ctgctaataca gtgcctcagt cataatatcc 60
 agaggacaaa ttgttctcac ccagtctcca gcaatcatgt ctgcatctcc aggggagaag 120
 gtcaccatga cctgcagtgc cagctcaagt gtaagttaca tgcactggta ccagcagaag 180
 tcaggcacct cccccaaaag atggatttat gacacatcca aactggcttc tggagtccct 240
 gctcgtctca gtggcagtgg gtctgggacc tcttactctc tcacaatcag cagcatggag 300
 gctgaagatg ctgccactta ttactgccag cagtggagta gtaaccatt cacgttcggc 360
 tcggggacaa agttggaaat aaaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 420
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 480
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 540
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacccctg 600
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 660
 ggcctgagct cgcccgctac aaagagcttc aacaggggag agtggttag 708

<210> 468

<211> 235

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de cadena ligera chP1A7 quimérica humana y murina

<400> 468

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
 1 5 10 15

Val Ile Ile Ser Arg Gly Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile
 20 25 30

Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser
 35 40 45

Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser
 50 55 60

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

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile
 85 90 95

Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp
 100 105 110

5

10

ES 2 673 153 T3

Ser Ser Asn Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 115 120 125

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 130 135 140

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

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 165 170 175

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

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

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

<210> 469

<211> 1395

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de cadena pesada chP1A7 hulG1 quimérica humana y murina

<400> 469

atggactgga cctggagggt cttctgcttg ctggctgtag caccaggtgc ccactcccag 60
 gtccaactgg tacagtctgg acctgagctg aagaagcctg gagagacagt caagatctcc 120
 tgcaaggcct ctgggtatac cttcacaac tatggaatga actgggtgaa gcaggctcca 180
 ggaaagggtt taaagtggat gggctggata aacaccgaca ctggagagcc aacatatact 240
 gaagatttcc agggacgggt tgccttctct ttggaaacct ctgccagcac tgtttatttg 300
 cagttcaaca acctcaaaaa tgaggacacg gctacatatt tctgtgcaag agagggggtc 360
 cactttgact actggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctcagcctc caccaagggc 420
 ccatcggtct tccccctggc acctcctcc aagagcacct ctggggggcac agcggccctg 480
 ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc 540
 ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccggt gtcctacagt cctcaggact ctactccctc 600
 agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 660
 aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaagttg agoccaaatac ttgtgacaag 720

5

10

ES 2 673 153 T3

actcacacat gccaccgtg cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttctc 780
 ttcccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcggt 840
 gtgggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcggtg 900
 gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 960
 gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 1020
 gtctccaaca aagccctccc agccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1080
 ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg atgagctgac caagaaccag 1140
 gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1200
 agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgttgga ctccgacggc 1260
 tccttcttcc tetacagcaa gtcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1320
 ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1380
 ctgtctcccg gttga 1395
 <210> 470
 <211> 464
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia de cadena pesada chP1A7 quimérica humana y murina
 <400> 470
 Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly
 1 5 10 15
 Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys
 20 25 30
 Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45
 Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Asp Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Thr
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Gln Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser
 85 90 95
 Thr Val Tyr Leu Gln Phe Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr
 100 105 110
 Tyr Phe Cys Ala Arg Glu Gly Val His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 115 120 125

5

10

ES 2 673 153 T3

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

ES 2 673 153 T3

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
385 390 395 400

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
405 410 415

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
420 425 430

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
435 440 445

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
450 455 460

<210> 471

<211> 106

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<220>

<223> Variante de cadena ligera sintética 3

<400> 471

Gln 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 Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80

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

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

<210> 472

<211> 116

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Variante de cadena pesada sintética 1

<400> 472

5

10

15

ES 2 673 153 T3

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

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

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

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

Gln Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Ala Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Met Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 473

<211> 116

<212> PRT

5

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Variante de cadena pesada sintética 3

<400> 473

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

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

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Ala Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

10

ES 2 673 153 T3

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

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

Thr Val Ser Ser
 115

<210> 474

<211> 466

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia sintética de cadena pesada variable aglicosilada Li81

<400> 474

Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly
 1 5 10 15

Ala His Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

Ser Ala Tyr Glu Met Lys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Ser Val Ile Gly Pro Ser Gly Gly Phe Thr Phe Tyr Ala
 65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
 85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Thr Glu Gly Asp Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly
 115 120 125

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 130 135 140

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

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 165 170 175

10

ES 2 673 153 T3

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Ala Tyr
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

ES 2 673 153 T3

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

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

Pro Gly
465

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado que puede unirse específicamente al polipéptido Sp35 humano (SEQ ID NO: 2), donde el anticuerpo comprende:
- 5 una región VH que comprende las secuencias CDR1, CDR2 y CDR3 de VH indicadas en SEQ ID NO: 436, SEQ ID NO: 437 y SEQ ID NO: 438, respectivamente; y
- una región VL que comprende las secuencias CDR1, CDR2 y CDR3 de VL indicadas en SEQ ID NO: 442, SEQ ID NO: 443 y SEQ ID NO: 444, respectivamente,
- 10 donde el anticuerpo se une al polipéptido Sp35 con una afinidad caracterizada por una constante de disociación no mayor que 5×10^{-10} M medido mediante FACS en células CHO transfectadas de forma estable con Sp35 humano, y
- 15 donde el anticuerpo es IgG1/kappa.
2. Un anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo que puede unirse específicamente al polipéptido Sp35 humano (SEQ ID NO: 2), donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende la región VL de la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 434 y la región VH de
- 20 la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 433.
3. Un anticuerpo aislado que puede unirse específicamente al polipéptido Sp35 humano (SEQ ID NO: 2), donde el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 434 y la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 435.
- 25 4. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1, donde la cadena pesada del anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 435.
5. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las
- 30 reivindicaciones 1 a 4, donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo está fusionado con una fracción de direccionamiento encefálico.
6. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 5, donde la fracción de direccionamiento encefálico se selecciona de entre el grupo que consiste en el anticuerpo de dominio
- 35 único FC5, el anticuerpo monoclonal mAB 83-14 para el receptor de insulina humana, un péptido B2 que se une al receptor de transferrina humana, un péptido B6 que se une al receptor de transferrina humana y un péptido B8 que se une al receptor de transferrina humana, receptor anti-Fc, transferrina y receptor anti-insulina.
7. Una composición que comprende el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de
- 40 acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
8. La composición de acuerdo con la reivindicación 7, donde la composición se formula para administración parenteral.
- 45 9. Uso del anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en la preparación de un medicamento para tratar la esclerosis múltiple en un sujeto humano.
10. Uso del anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una
- 50 cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en la preparación de un medicamento para tratar la neuritis óptica en un sujeto humano.
11. Uso del anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en la preparación de un medicamento para tratar la neuropatía óptica
- 55 isquémica aguda en un sujeto humano.
12. Uso del anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en la preparación de un medicamento para tratar el accidente cerebrovascular en un sujeto humano.
- 60

13. Uso del anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en la preparación de un medicamento para tratar la mielitis transversa en un sujeto humano.
- 5 14. Uso del anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en la preparación de un medicamento para tratar una lesión por traumatismo craneoencefálico en un sujeto humano.
15. Uso del anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en la preparación de un medicamento para tratar una lesión de la médula espinal en un sujeto humano.
- 10 15. Uso del anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en la preparación de un medicamento para tratar la enfermedad de Alzheimer en un sujeto humano.
17. Uso del anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en la preparación de un medicamento para tratar la adrenoleucodistrofia en un sujeto humano.
- 20 18. Uso del anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en la preparación de un medicamento para tratar la leucodistrofia metacromática en un sujeto humano.
- 25 19. El anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para el uso en el tratamiento de la esclerosis múltiple en un sujeto humano.
20. El anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para el uso en el tratamiento de la neuritis óptica en un sujeto humano.
- 30 21. El anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para el uso en el tratamiento de la neuropatía óptica isquémica aguda en un sujeto humano.
- 35 22. El anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para el uso en el tratamiento de un accidente cerebrovascular en un sujeto humano.
23. El anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para el uso en el tratamiento de la mielitis transversa en un sujeto humano.
- 40 24. El anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para el uso en el tratamiento de una lesión por traumatismo craneoencefálico en un sujeto humano.
- 45 25. El anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para el uso en el tratamiento de una lesión de la médula espinal en un sujeto humano.
26. El anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para el uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer en un sujeto humano.
- 50 27. El anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para el uso en el tratamiento de la adrenoleucodistrofia en un sujeto humano.
28. El anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para el uso en el tratamiento de la leucodistrofia metacromática en un sujeto humano.
- 55 29. Un anticuerpo monocatenario que puede unirse específicamente al polipéptido Sp35 humano (SEQ ID NO: 2), donde el anticuerpo monocatenario comprende:
- 60 una región VH que comprende las secuencias CDR1, CDR2 y CDR3 de VH indicadas en SEQ ID NO: 436, SEQ ID

NO: 437 y SEQ ID NO: 438, respectivamente; y

una región VL que comprende las secuencias CDR1, CDR2 y CDR3 de VL indicadas en SEQ ID NO: 442, SEQ ID NO: 443 y SEQ ID NO: 444, respectivamente,

5

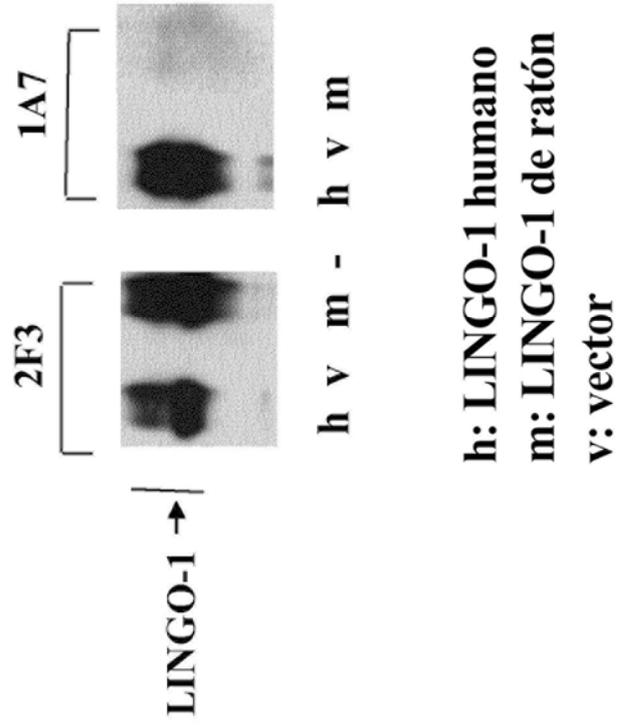
donde el anticuerpo se une al polipéptido Sp35 con una afinidad caracterizada por una constante de disociación no mayor que 5×10^{-10} M medido mediante FACS en células CHO transfectadas de forma estable con Sp35 humano.

30. Un anticuerpo monocatenario que puede unirse específicamente al polipéptido Sp35 humano (SEQ ID NO: 2), donde el anticuerpo monocatenario comprende la región VL de la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 434 y la región VH de la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 433.

31. El anticuerpo monocatenario de acuerdo con la reivindicación 29 o 30, donde el anticuerpo monocatenario es un scFv.

15

FIG. 1



Datos FACS de células 293 transfectadas de LINGO-1 humano

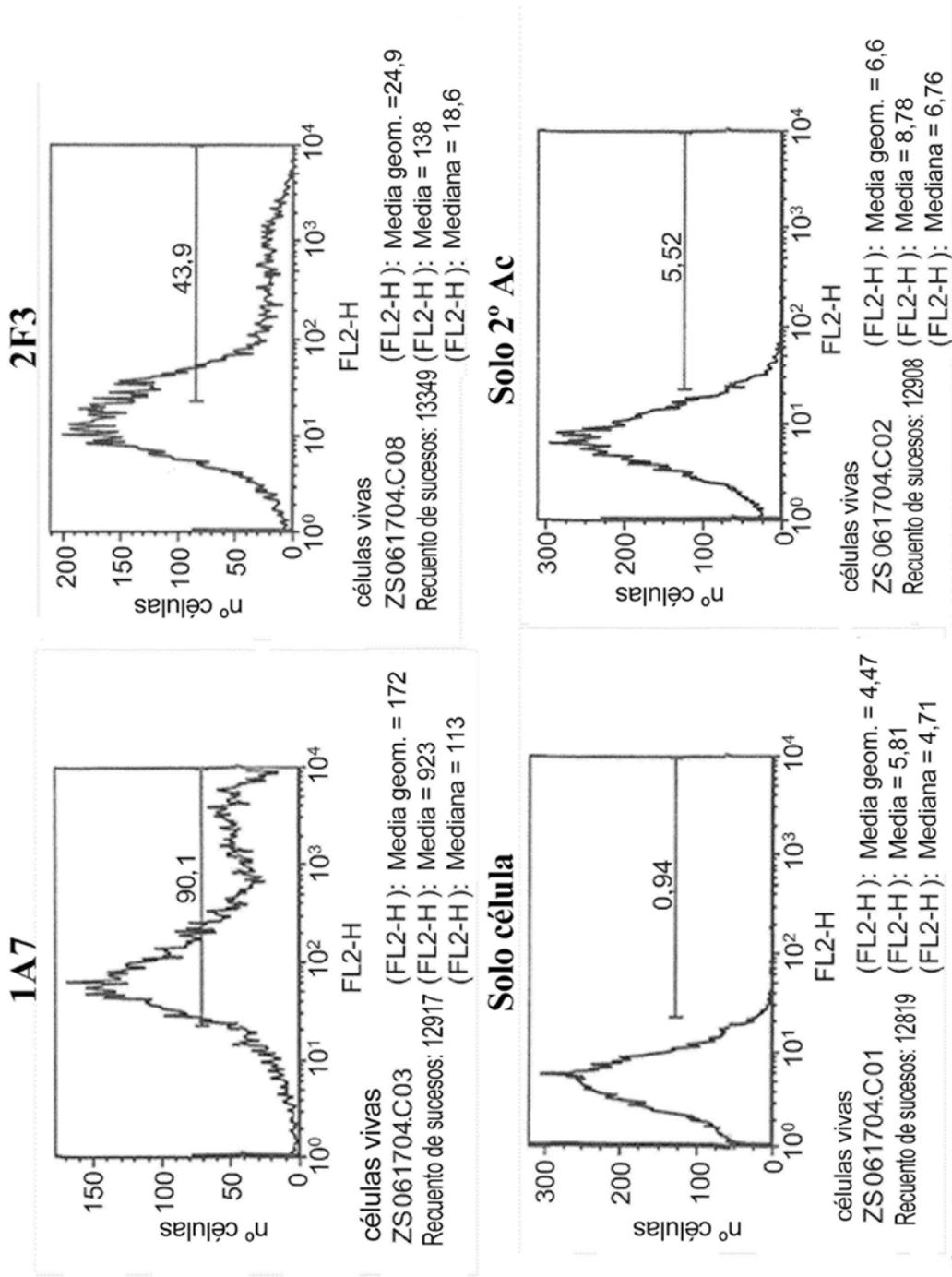


Fig 2

1A7 y 2F3 promueven crecimiento de neuritas en NGC y GRD

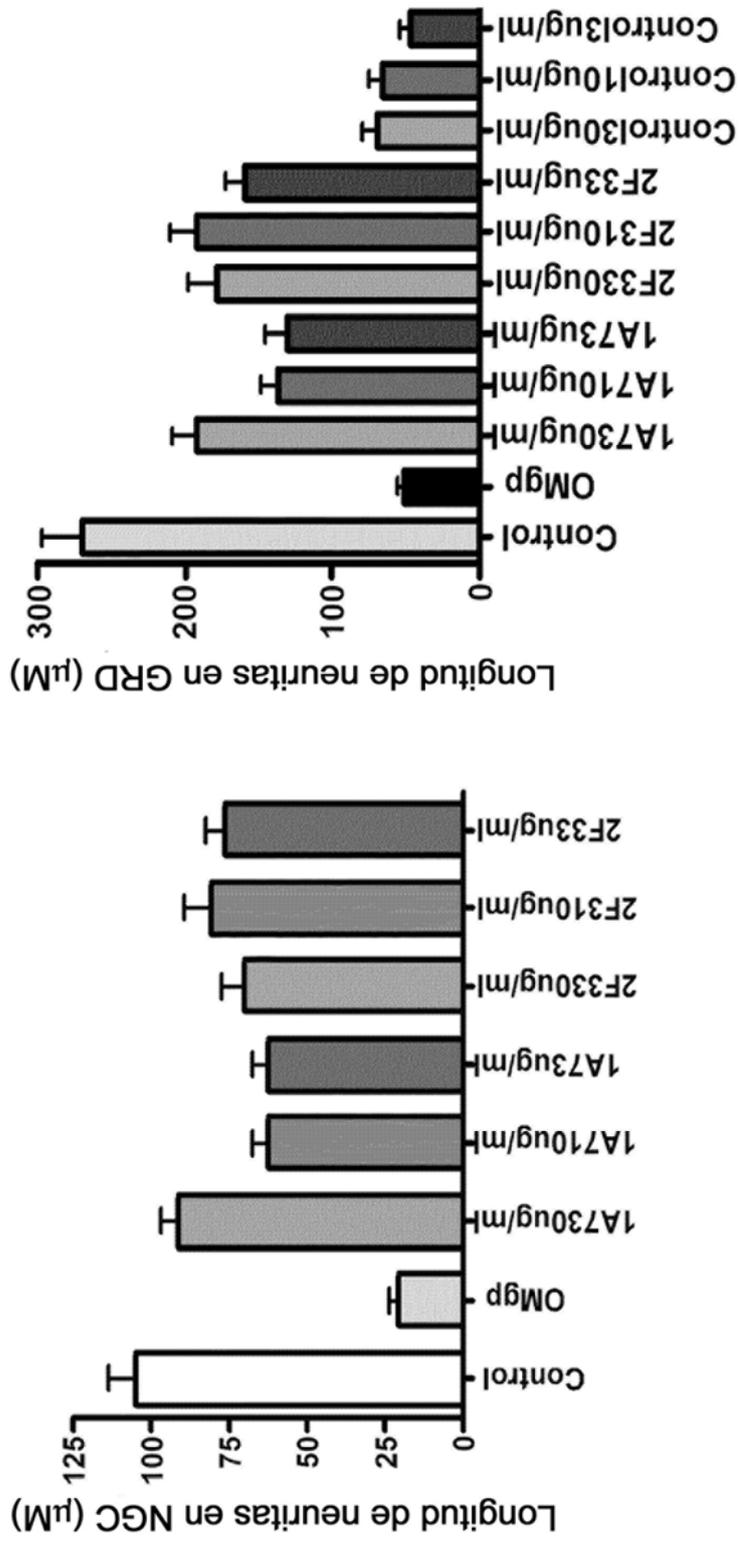


Fig 3

FIG. 4: Los AMc anti-LINGO-1 promueven la mielinización en cocultivo

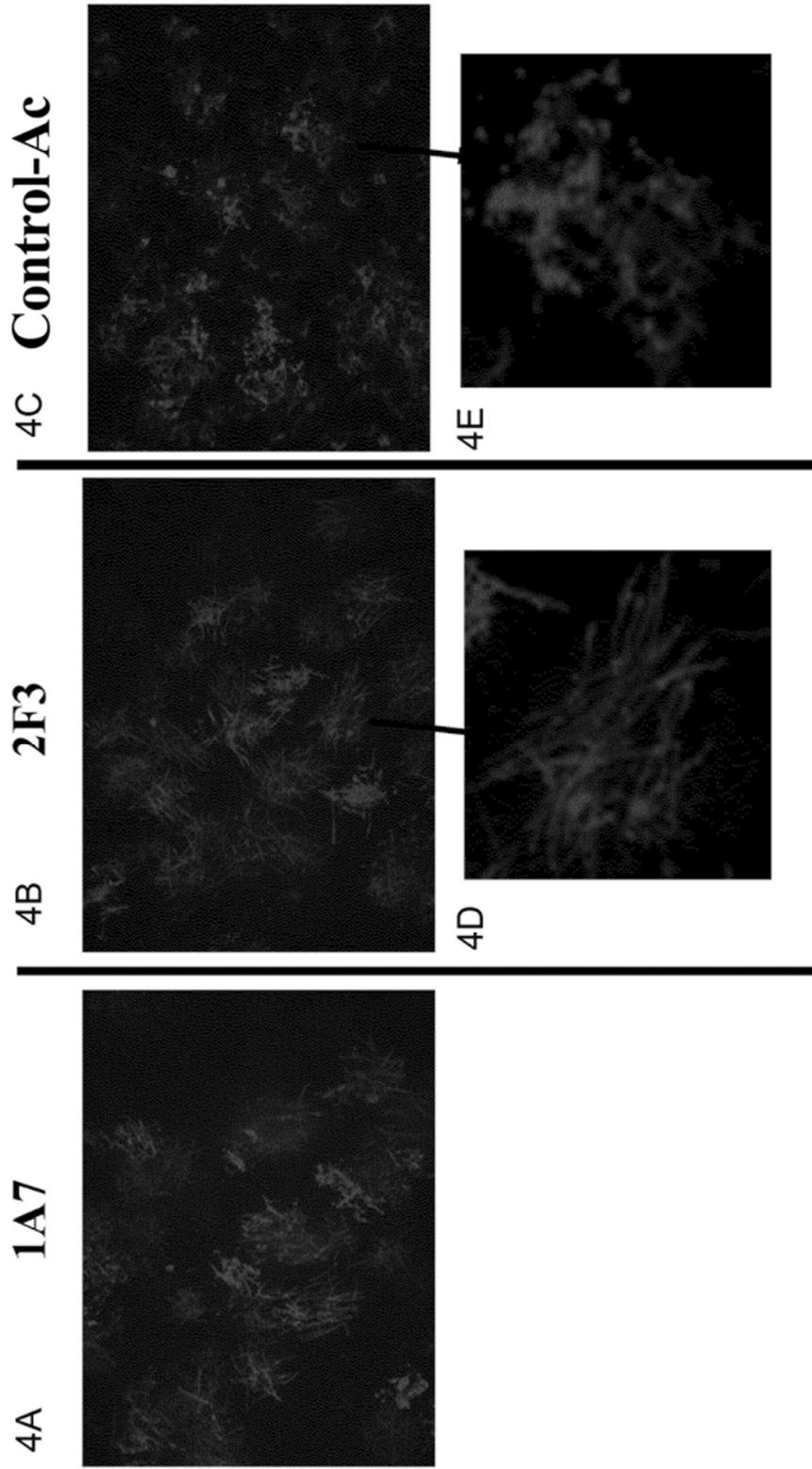


FIG. 4: Los AMc anti-LINGO-1 promueven la mielinización en cocultivo

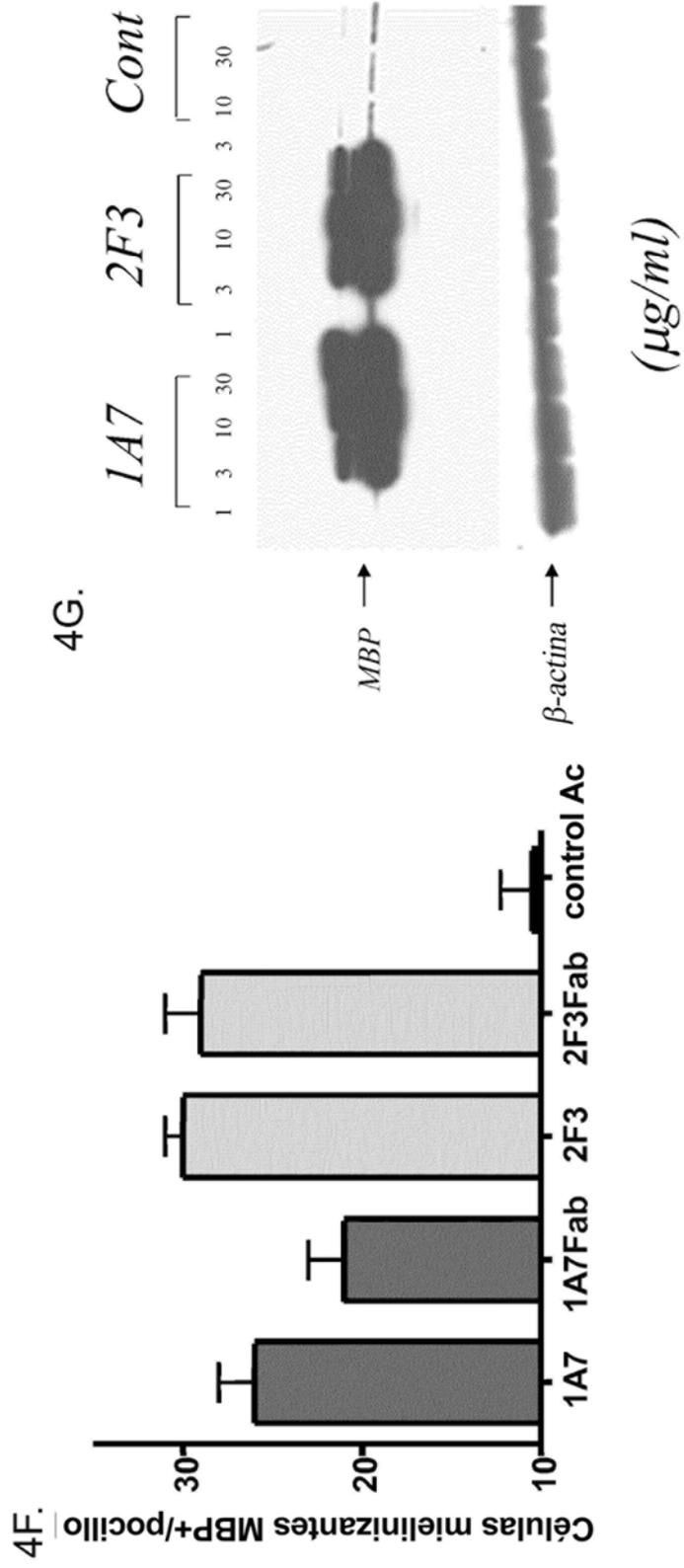
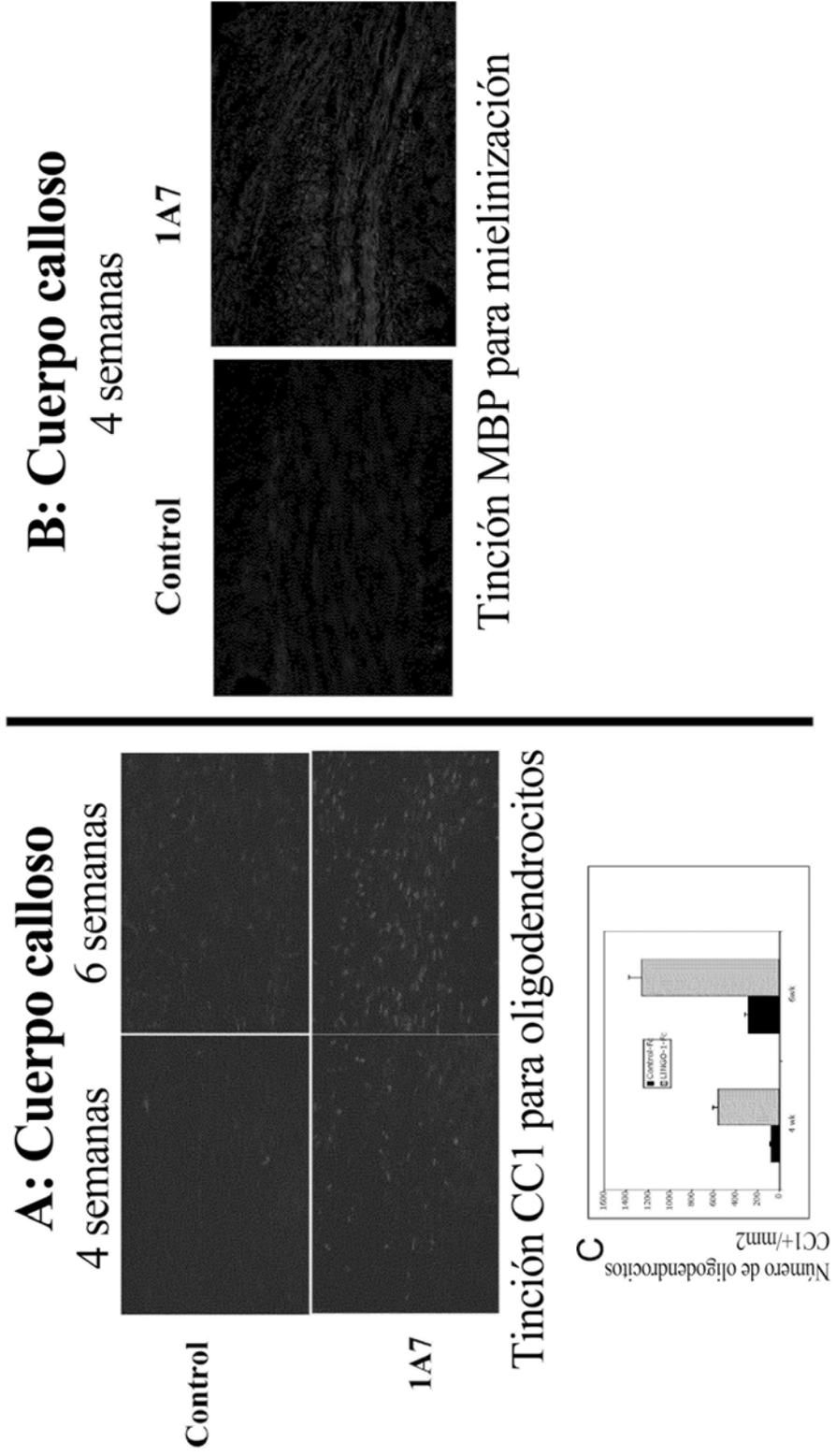


FIG. 5: 1A7 promueve la supervivencia y remielinización de oligodendrocitos en modelo de cuprizona



1A7 promueve la supervivencia de neuronas CGR

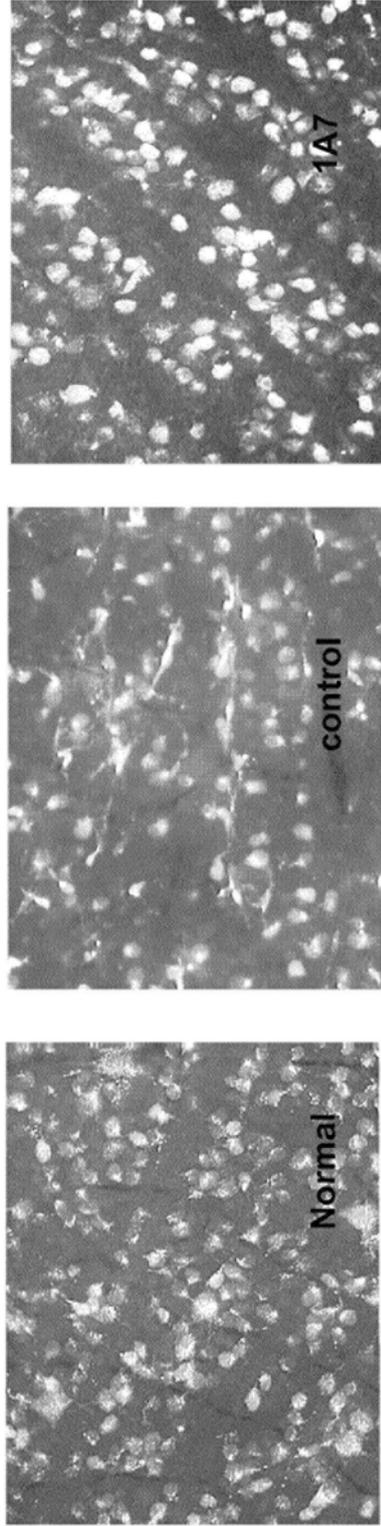


Fig 6

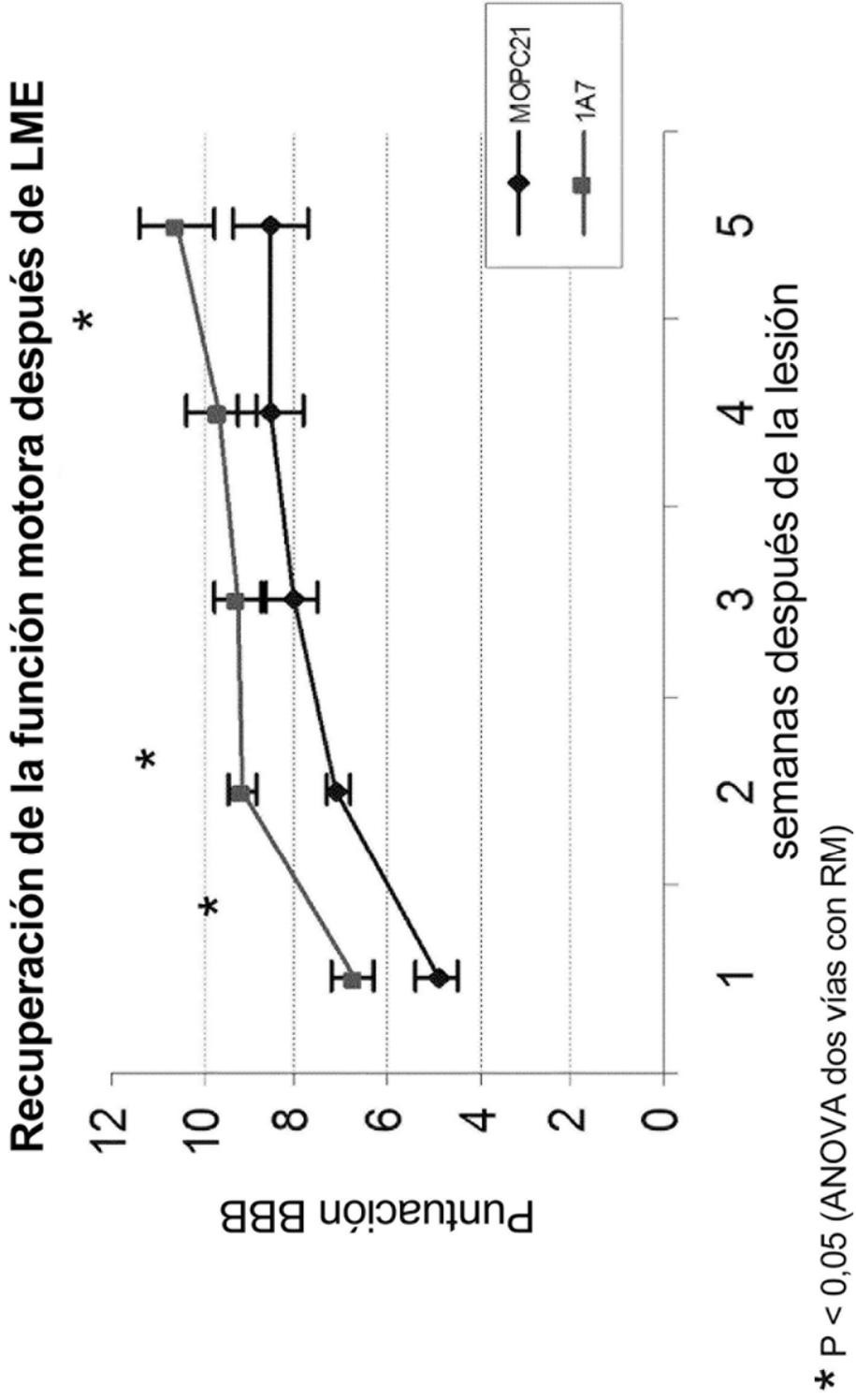


Fig 7

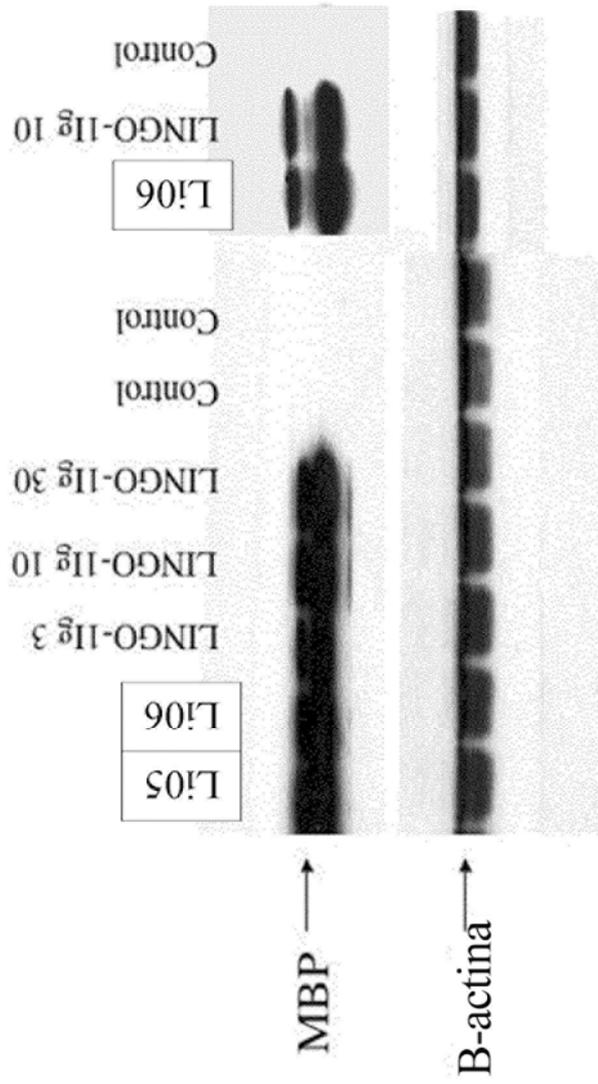


Fig 8

El tratamiento con 1A7 promueve la remielinización y la reparación en el modelo de rata con neuritis óptica

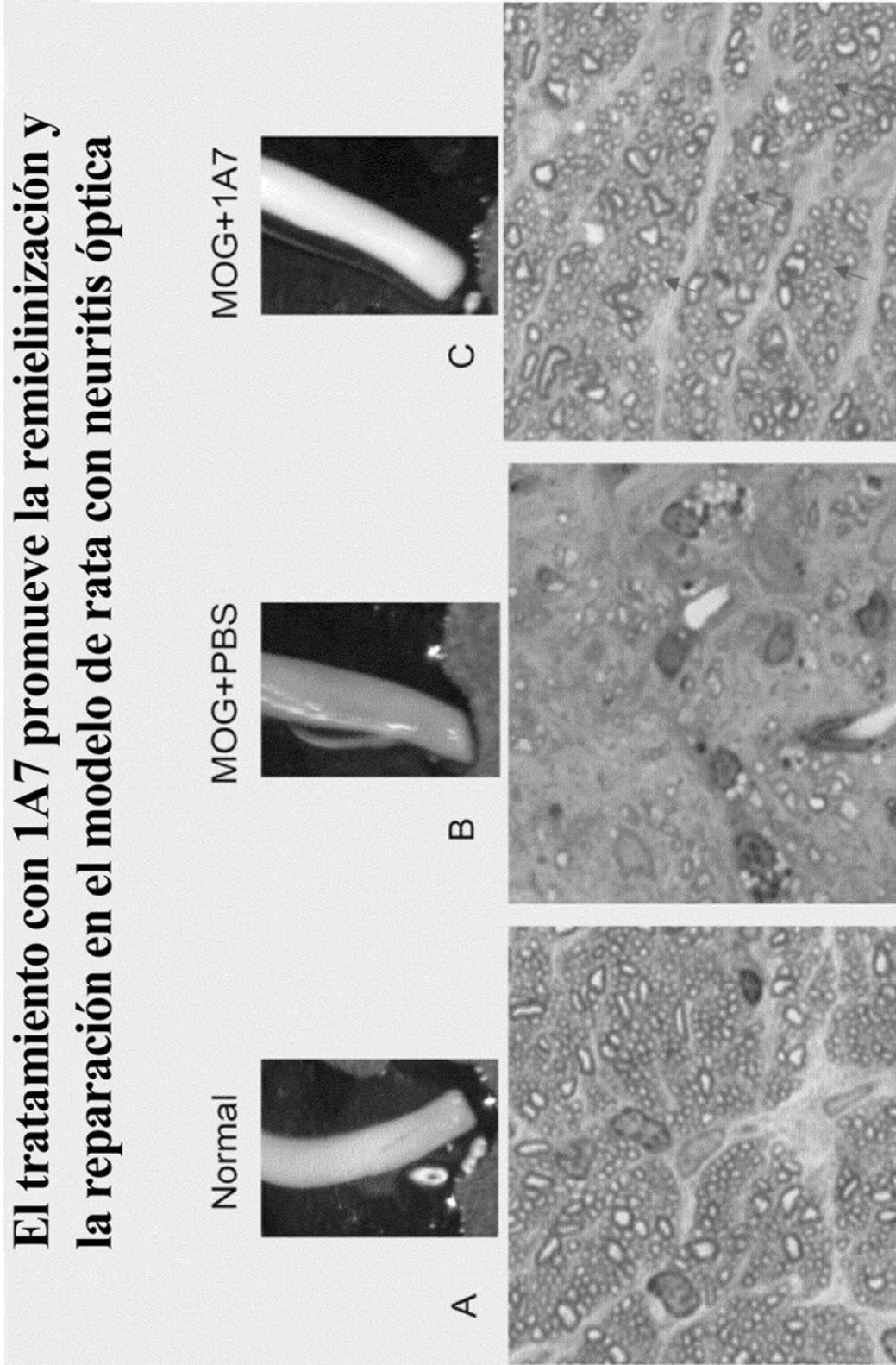


FIG. 9

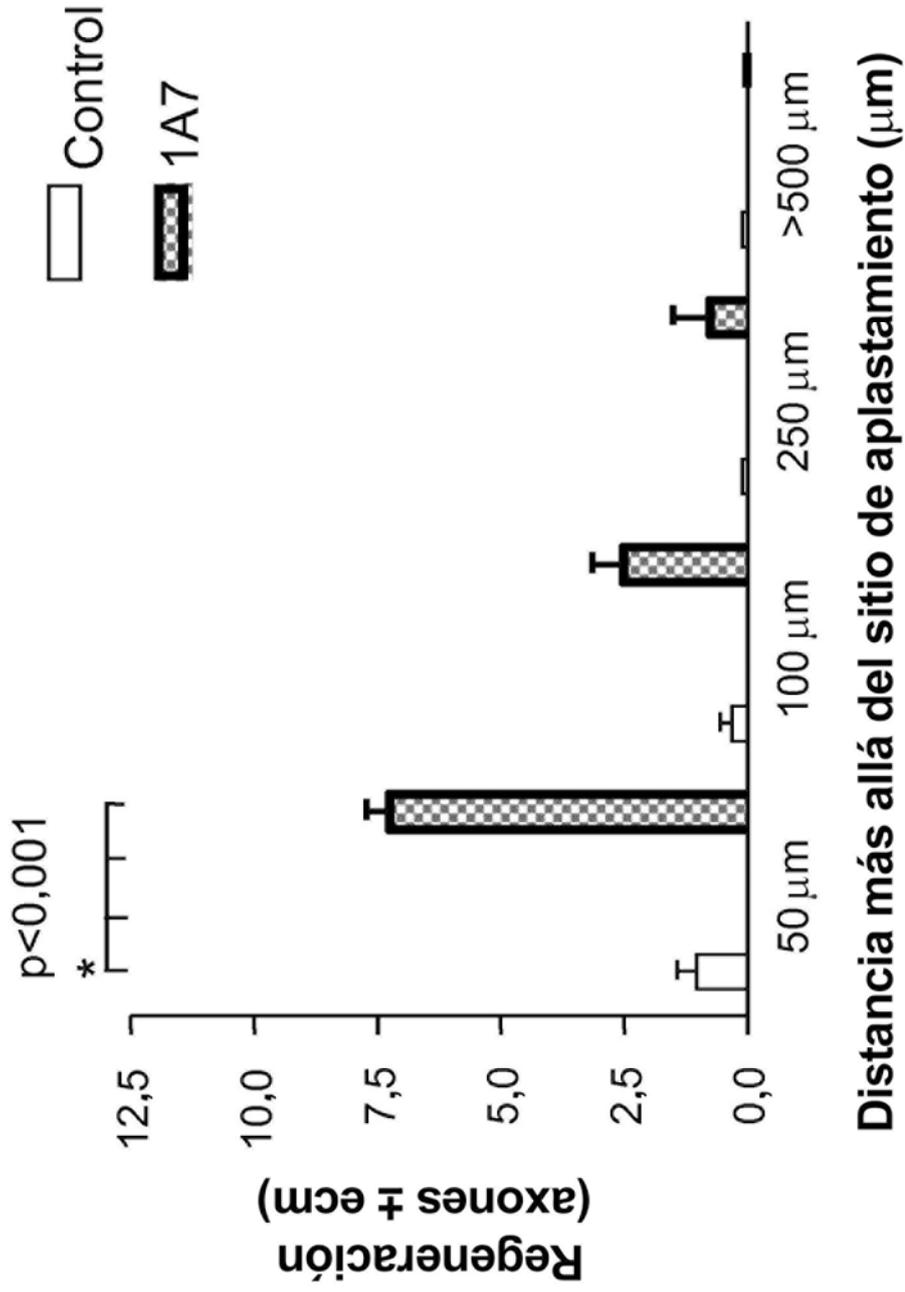


Fig. 10

FACS de unión directa a CHO LINGO-1 estable

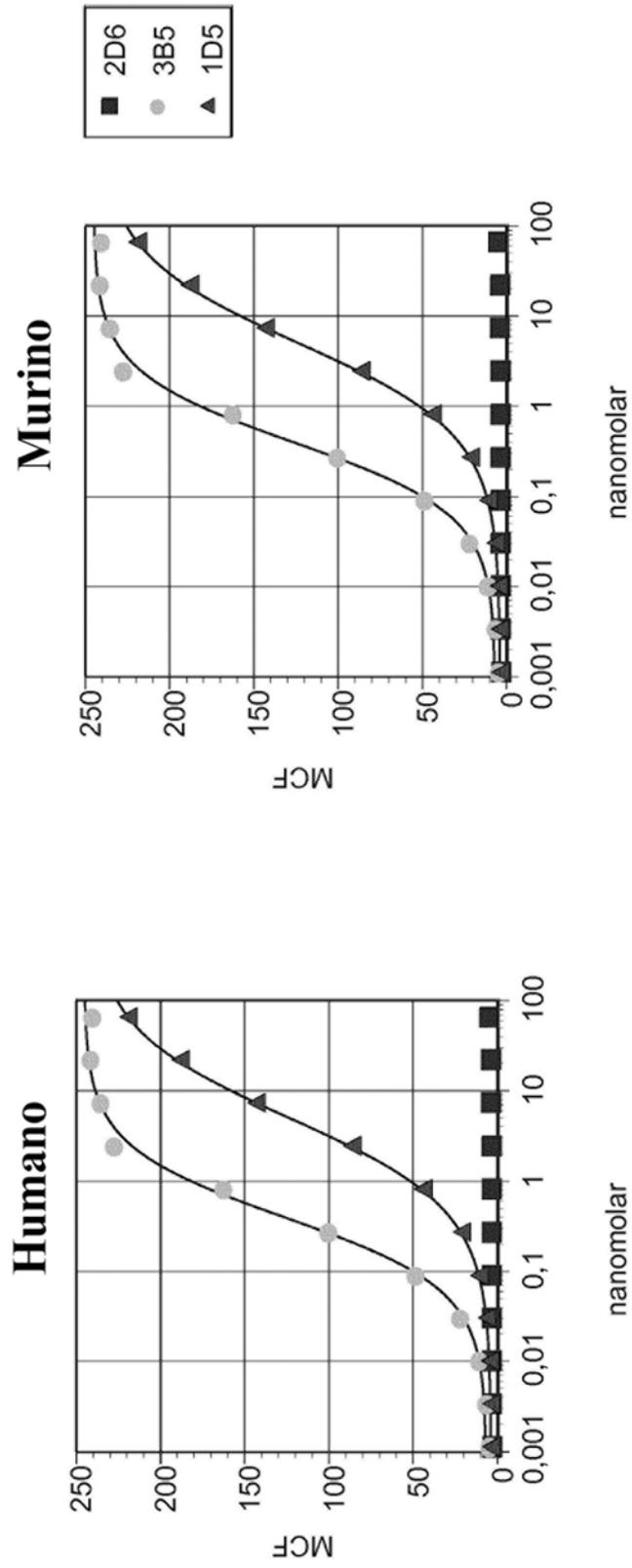


Fig. 11