

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 861 313**

51 Int. Cl.:

A61P 11/00 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.08.2015** **PCT/JP2015/072305**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.02.2016** **WO16021674**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.08.2015** **E 15830516 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.01.2021** **EP 3178931**

54 Título: **Anticuerpo anti Orai1**

30 Prioridad:

07.08.2014 JP 2014161449

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

06.10.2021

73 Titular/es:

DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED (100.0%)
3-5-1 Nihonbashi-honcho, Chuo-ku
Toyko 103-8426, JP

72 Inventor/es:

KOMAI, TOMOAKI;
KIMURA, TAKAKO;
BABA, DAICHI;
ONODERA, YOSHIKUNI;
TANAKA, KENTO;
KAGARI, TAKASHI;
AKI, ANRI y
NAGAOKA, NOBUMI

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 861 313 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

Anticuerpo anti Orai1

Campo técnico

La presente invención se refiere al aprovisionamiento de un anticuerpo anti Orai1 sumamente activo para el tratamiento de trastornos y enfermedades.

Antecedentes de la técnica

Los canales de calcio activados por la liberación de calcio (CRAC, del inglés *calcium release activated calcium*) son un subconjunto de canales regulados por depósitos (SOC, del inglés *store-operated channels*) que se abren en respuesta al empobrecimiento del calcio depositado en el retículo endoplasmático intracelular y son responsables de la entrada de calcio extracelular a determinadas células no excitables, en particular, células del sistema inmunitario, incluidos los linfocitos T y mastocitos, y de la resultante activación de las células. En la técnica se conocen inhibidores de la actividad de los canales CRAC y Feske y col. han descrito su identificación y potenciales terapéuticos (bibliografía no de patente 1 y 2).

Orai1 (CRACM1: modulador 1 de calcio activado por la liberación de calcio, proteína transmembrana 142A: TMEM142A), una proteína transmembrana de 4 pasos compuesta por 301 restos de aminoácido, se ha identificado como un componente que constituye la subunidad formadora de poros de los canales CRAC al formar un homotetrámero (bibliografía de patente 1 y bibliografía no de patente 3 a 5). La familia de genes Orai comprende el gen Orai1 humano junto con los genes Orai2 humano y Orai3 humano, cada uno de los cuales tiene una homología del 90 % o superior con el gen Orai1 humano (bibliografía no de patente 6). En algunos casos, también se ha informado sobre la posibilidad de formar un heterotetrámero o un heterohexámero que contenga la proteína Orai2 y/u Orai3 y Orai1 (bibliografía no de patente 7 y 8). Orai1 está constituido por regiones citoplasmáticas de extremo N y de extremo C que se acoplan a STIM-1 o STIM-2 (siglas del inglés, *stromal interaction molecule 1 or 2*, molécula 1 o 2 de interacción con el estroma), que es una proteína que detecta el empobrecimiento del calcio depositado en el retículo endoplasmático intracelular y que tiene 4 dominios transmembrana, estando el primer dominio de bucle extracelular compuesto por aproximadamente 20 restos de aminoácido y estando el segundo dominio de bucle extracelular compuesto por aproximadamente 40 restos de aminoácido (bibliografía no de patente 9). La secuencia de ADN y la secuencia de aminoácidos de Orai1 están disponibles en una base de datos pública y se pueden consultar, por ejemplo, con los n.º de referencia NM_032790 y NP_116179 (NCBI).

Se ha descubierto que un defecto congénito en la función del gen Orai1 humano elimina la actividad de los canales CRAC y cancela las respuestas del cuerpo a los inmunógenos, dando como resultado afecciones relacionadas con inmunodeficiencia grave. Por lo tanto, se ha demostrado que la función molecular de Orai1 es esencial para la activación de los canales CRAC (bibliografía no de patente 10 y 11). Por tanto, los anticuerpos que bloquean la función de direccionamiento de la molécula Orai1 pueden servir como inhibidores de la actividad de los canales CRAC.

A la luz de informaciones que sugieren que los inhibidores de la actividad de los canales CRAC pueden usarse para tratar pacientes con enfermedades inmunológicas, enfermedades alérgicas, enfermedades inflamatorias, rechazo de trasplante de células u órganos, trombosis, cáncer, etc. (bibliografía no de patente 12), se ha intentado obtener anticuerpos anti Orai1 con el objetivo de inhibir la función molecular de Orai1, y se han estudiado sus efectos (bibliografía de patente 2 y 3 y bibliografía no de patente 13 y 14). Aunque en esta bibliografía se indica que cada anticuerpo por sí solo inhibe la activación de los linfocitos T, la actividad inhibidora aún no es lo suficientemente fuerte. La aplicación clínica de estos anticuerpos como productos biológicos que se dirigen a Orai1, puede que no satisfaga las necesidades médicas en cuanto a la necesidad de dosis altas o administración frecuente, procedimientos de administración limitados o similares.

Listado de citas

Bibliografía de patente

Bibliografía de patente 1: Publicación internacional N.º WO07/081804

Bibliografía de patente 2: Publicación internacional N.º WO11/063277

Bibliografía de patente 3: Publicación internacional N.º WO13/091903

Bibliografía no de patente

Bibliografía no de patente 1: Feske S, Nature Rev. Immunol. 7, págs. 690-702 (2007)

Bibliografía no de patente 2: Derler I, y col., Expert Opin. Drug Discovery 3 (7), págs. 787-800 (2008)

Bibliografía no de patente 3: Prakriya M, y col., Nature 443, págs. 230-233 (2006)

Bibliografía no de patente 4: Vig M, y col., Science 312, págs. 1220-1223 (2006)

Bibliografía no de patente 5: Park CY y col., Cell 136, págs. 876-890 (2008)

Bibliografía no de patente 6: Mercer JC y col., J. Biol. Chem. 281, págs. 24979-24990 (2006)

- Bibliografía no de patente 7: Gwack Y, y col., J. Biol. Chem. 282, págs. 16232-16243 (2007)
 Bibliografía no de patente 8: Hou X y col., Science 338, págs. 1308-1313 (2012)
 Bibliografía no de patente 9: Vig M, y col., Curr. Biol. 16, págs. 2073-2079 (2006)
 Bibliografía no de patente 10: Feske S, Nature 441, págs. 179-185 (2006)
 Bibliografía no de patente 11: McCarl CA y col., J. Allergy Clin. Immunol. 124, págs. 1311-1318 (2009)
 Bibliografía no de patente 12: McCarl CA y col., J. Immunol. 185, págs. 5845-5858 (2010)
 Bibliografía no de patente 13: Lin F y col., J. Pharmacol. Exp. Ther. 345, págs. 225-238 (2013)
 Bibliografía no de patente 14: Cox JH y col., PLOS ONE 8 (12), e82944 (2013)

Sumario de la invención

Problema técnico

Un objeto de la presente invención es proporcionar un agente terapéutico y/o profiláctico para el rechazo de trasplantes, enfermedades inmunitarias, enfermedades alérgicas, enfermedades inflamatorias, trombosis, cáncer, etc.

Solución al problema

Los presentes inventores han obtenido anticuerpos anti Orai1 de rata con el fin de buscar sustancias que tengan un efecto terapéutico y/o profiláctico sobre el rechazo de trasplantes, enfermedades inmunitarias, enfermedades alérgicas, enfermedades inflamatorias, trombosis o cánceres. Los anticuerpos anti Orai1 de rata obtenidos se han humanizado, y las CDR, las regiones marco conservas y las regiones variables de los anticuerpos humanizados, se han genomodificado. De esta manera, se ha completado la presente invención.

Específicamente, la presente invención abarca los siguientes aspectos:

(1) Un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, que se une específicamente a la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 2, en el que la secuencia de cadena pesada comprende una región variable que tiene una CDRH1, CDRH2 y CDRH3, en el que la CDRH1 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 102, la CDRH2 consiste en una secuencia de aminoácidos representada por una cualquiera de las SEQ ID NO: 104, 106, 107 y 108, y la CDRH3 consiste en una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 109 o 110; y la secuencia de cadena ligera comprende una región variable que tiene una CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en el que la CDRL1 consiste en una secuencia de aminoácidos representada por una cualquiera de las SEQ ID NO: 93, 94 y 95, la CDRL2 consiste en una secuencia de aminoácidos representada por una cualquiera de las SEQ ID NO: 96, 97 y 98, y la CDRL3 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 101.

(2) El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según el aspecto (1), en el que la secuencia de cadena pesada comprende una región variable que tiene una CDRH1, CDRH2 y CDRH3, en el que la CDRH1 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 102, la CDRH2 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 106 y la CDRH3 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 110; y la secuencia de cadena ligera comprende una región variable que tiene una CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en el que la CDRL1 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 93, la CDRL2 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 96 y la CDRL3 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 101.

(3) El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según el aspecto (1), en el que la secuencia de cadena pesada comprende una región variable que tiene una CDRH1, CDRH2 y CDRH3, en el que la CDRH1 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 102, la CDRH2 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 106 y la CDRH3 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 110; y la secuencia de cadena ligera comprende una región variable que tiene una CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en el que la CDRL1 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 94, la CDRL2 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 97 y la CDRL3 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 101.

(4) El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según el aspecto (1), en el que la secuencia de cadena pesada comprende una región variable que tiene una CDRH1, CDRH2 y CDRH3, en el que la CDRH1 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 102, la CDRH2 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 106 y la CDRH3 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 110; y la secuencia de cadena ligera comprende una región variable que tiene una CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en el que la CDRL1 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 95, la CDRL2 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 98 y la CDRL3 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 101.

(5) El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según el aspecto (1), en el que la secuencia de cadena pesada comprende una región variable que tiene una CDRH1, CDRH2 y CDRH3, en el que la CDRH1 consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 102, la CDRH2 consiste en la

20 a 465 o 20 a 466 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ. ID NO: 64 y una secuencia de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 234 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 56.

(17) El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según el aspecto (1) o (6), en el que el anticuerpo comprende una secuencia de región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 20 a 136 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 66 y una secuencia de región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 126 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 56.

(18) El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según el aspecto (17), en el que el anticuerpo consiste en una secuencia de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 20 a 465 o 20 a 466 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ. ID NO: 66 y una secuencia de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 234 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 56.

(19) El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según el aspecto (1) o (7), en el que el anticuerpo comprende una secuencia de región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 20 a 136 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 43 y una secuencia de región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 126 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 56.

(20) El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según el aspecto (19), en el que el anticuerpo consiste en una secuencia de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 20 a 465 o 20 a 466 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ. ID NO: 43 y una secuencia de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 235 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 56.

(21) El fragmento de unión a antígeno (Fab, del inglés *Fragment antigen-binding*) del anticuerpo según uno cualquiera de los aspectos (1) a (20), en el que el fragmento de unión a antígeno se selecciona del grupo que consiste en Fab, F(ab')₂, Fab' y Fv.

(22) El anticuerpo según uno cualquiera de los aspectos (1) a (8), (11), (13), (15), (17) y (19), en el que el anticuerpo es un scFv.

(23) Una composición farmacéutica que comprende al menos uno cualquiera del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según los aspectos (1) a (22).

(24) La composición farmacéutica según el aspecto (23), en la que la composición farmacéutica es un agente terapéutico y/o profiláctico para el rechazo de trasplantes, enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario, enfermedades alérgicas, enfermedades inflamatorias o cánceres, un activador antiplaquetario o antitrombótico, o un inhibidor de activación de células que expresan Orai1.

(25) La composición farmacéutica según el aspecto (24), en la que los rechazos de trasplantes son respuestas de rechazo y reacciones del hospedador contra el injerto al trasplante de un órgano o un tejido, tal como el corazón, el riñón, el hígado, la médula ósea o la piel, y la enfermedad del injerto contra el hospedador es provocada por el trasplante de células hematopoyéticas (médula ósea, sangre periférica, sangre de cordón umbilical, etc.).

(26) La composición farmacéutica según el aspecto (24), en la que las enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario son enfermedades del tejido conectivo o musculoesqueléticas (artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, lupus eritematoso sistémico, esclerodermia, polimiositis, dermatomiositis, etc.), enfermedades hematológicas (anemia aplásica, púrpura trombocitopénica idiopática, etc.), enfermedades gastrointestinales (enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, etc.), enfermedades neurológicas (esclerosis múltiple, miastenia grave, etc.), enfermedades oftálmicas (uveítis, etc.), enfermedades vasculares (enfermedad de Behcet, granulomatosis de Wegener, etc.), enfermedades epidérmicas (psoriasis, pénfigo, leucodermia, etc.), enfermedades endocrinas (diabetes mellitus de tipo 1, tiroiditis autoinmunitaria, enfermedad de Grave, enfermedad de Hashimoto, etc.), y similares, las enfermedades alérgicas son dermatitis atópica, asma, anafilaxia, reacción anafilactoide, alergia alimentaria, rinitis, otitis media, reacción a los fármacos, reacción a las picaduras de insectos, reacción a las plantas, alergia al látex, conjuntivitis, urticaria, y similares, y las enfermedades inflamatorias son nefropatías inflamatorias (glomerulonefritis, nefrosis, etc.), neumopatías inflamatorias (neumopatía obstructiva crónica, fibrosis quística, neumonía intersticial, etc.), enteropatías inflamatorias (colitis ulcerosa, ileítis, etc.), hepatopatías inflamatorias (hepatitis autoinmunitaria, hepatitis vírica, etc.), cardiopatías inflamatorias (miocarditis, cardiopatía isquémica, aterosclerosis, etc.), enfermedades inflamatorias de la piel (dermatitis de contacto, eccema, etc.), enfermedades oculares inflamatorias (tracoma, endoftalmia, etc.), enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central (meningitis, encefalomiелitis, encefalitis autoinmunitaria, etc.), artropatías inflamatorias (artritis, artrosis, etc.), inflamaciones sistémicas (septicemia, hemorragia, hipersensibilidad, síntomas de choque atribuidos a la quimioterapia contra el cáncer o similares, etc.), y similares.

(27) La composición farmacéutica según el aspecto (24), en la que los cánceres son cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de piel, leucemia y similares, y los casos en los que la actividad antiplaquetaria o antitrombótica es útil para el tratamiento y/o la prevención son infarto de miocardio, ictus, cardiopatía isquémica, trombosis y similares, y los casos en los que la inhibición de la activación de células que expresan Orai1 es útil para el tratamiento y/o la prevención son leucemia mastocítica, mastocitosis, leucemia basófila, endometriosis, miopatía con agregados tubulares, síndrome de Stormorken, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, dermatitis atópica y similares.

(28) Un polinucleótido que codifica un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, según uno cualquiera de los aspectos (1) a (22).

(29) Un vector que comprende un polinucleótido según el aspecto (28).

(30) Una célula hospedadora transformada que comprende un polinucleótido según el aspecto (28).

5 (31) Una célula hospedadora transformada que comprende un vector según el aspecto (29).

(32) Un procedimiento para producir un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, según uno cualquiera de los aspectos (1) a (22), que comprende la etapa de cultivar una célula hospedadora según el aspecto (30) o (31) y purificar un anticuerpo del producto de cultivo.

10 (33) Un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, que se une específicamente a la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 2, en el que la concentración a la que la cantidad de IL-2 liberada de células Jurkat tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 50 %, es de 80 ng/ml o inferior.

(34) El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según el aspecto (33), en el que la concentración a la que la cantidad de IL-2 liberada de células Jurkat tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 50 %, es de 10 ng/ml o inferior.

15 (35) Un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, que se une específicamente a la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 2, en el que la concentración a la que la cantidad de IL-2 liberada de células mononucleares de sangre periférica (CMSP) humana tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 50 %, es de 100 ng/ml o inferior.

20 (36) El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según el aspecto (35), en el que la concentración a la que la cantidad de IL-2 liberada de CMSP humana tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 50 % es de 20 ng/ml o inferior.

(37) Un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, que se une específicamente a la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 2, en el que la concentración a la que la cantidad de IFN- γ liberada de CMSP humana tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 50 %, es de 800 ng/ml o inferior.

25 (38) El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según el aspecto (37), en el que la concentración a la que la cantidad de IFN- γ liberada de CMSP humanas tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 50 %, es de 40 ng/ml o inferior.

Efectos ventajosos de la invención

30 Según la presente invención, basándose en la inhibición de la actividad de los canales CRAC como mecanismo de acción, puede obtenerse un agente terapéutico y/o profiláctico para el rechazo de trasplantes, enfermedades inmunitarias, enfermedades alérgicas, enfermedades inflamatorias, trombosis o cánceres.

Breve descripción de los dibujos

[Figura 1] La Figura 1 es un diagrama que muestra que cada uno de R118 y R198 se unen a células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1 de una manera dependiente de la concentración.

35 [Figura 2] La Figura 2 es un diagrama que muestra que cada uno de R118 y R198 inhibe, de una manera dependiente de la concentración, la liberación de IL-2 de células Jurkat tratadas con PMA y A23187.

[Figura 3] La Figura 3 es un diagrama que muestra que cada uno de cR118 y cR198 se unen a células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1 de una manera dependiente de la concentración.

40 [Figura 4] La Figura 4 es un diagrama que muestra que cada uno de cR118 y cR198 inhibe, de una manera dependiente de la concentración, la liberación de IL-2 de células Jurkat tratadas con PMA y A23187.

[Figura 5] La Figura 5 es un diagrama que muestra que cada uno de los anticuerpos anti Orai1 humanos humanizados hR198_H1/I1, hR198_H2/I2, hR198_H3/I3 y hR198_H4/I4, se une a células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1 de una manera dependiente de la concentración, como sucede con el anticuerpo precursor cR118 o cR198.

45 [Figura 6] La Figura 6 es un diagrama que muestra que cada uno de los anticuerpos anti Orai1 humanos humanizados inhibe, de una manera dependiente de la concentración, la liberación de IL-2 de células Jurkat tratadas con PMA y A23187.

[Figura 7] La Figura 7 es un diagrama que muestra que cada uno de los clones de Fab mutados, LCDR60, LCDR67, LCDR83, CE151, PE057, HCDR046, HCDR047, HEP087, HEP124 y HEP237, obtenidos mediante presentación en ribosomas, se unen con fuerza a células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1 en comparación con el Fab del anticuerpo precursor hR198_H4/I4-Fab.

50 [Figura 8] La Figura 8 es un diagrama que muestra que cada uno de los anticuerpos de maduración por afinidad hR198_H3/IG1, hR198_HG1/IG1, hR198_HG1/IG2, hR198_HG1/IG3, hR198_HG2/IG1 y hR198_HG3/IG1, se une a células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1 a un nivel equivalente al del anticuerpo precursor hR198_H3/I3 o hR198_H4/I4, o a un nivel más fuerte.

55 [Figura 9] La Figura 9 es un diagrama que muestra que cada uno de los anticuerpos de maduración por afinidad inhibe, de una manera dependiente de la concentración, la liberación de IL-2 de células Jurkat tratadas con PMA y A23187.

60 [Figura 10] La Figura 10 es un diagrama que muestra que cada uno de los anticuerpos 10F8, 14F74 y 17F6, se une a células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1.

[Figura 11] La Figura 11 es un diagrama que muestra que cada uno de los anticuerpos hR198_HG1/IG1, hR198_HG1-LALA/IG1, 2C1.1 y 5H3.1, se une a células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1.

[Figura 12] La Figura 12 es un diagrama que muestra que cada uno de los anticuerpos monoclonales anti Orai1

inhibe, de una manera dependiente de la concentración, la liberación de IL-2 de células Jurkat tratadas con PMA y A23187.

[Figura 13] La Figura 13 es un diagrama que muestra las concentraciones inhibitoras semimáximas (del 50 %) (CI_{50}) y las concentraciones inhibitoras del 80 % (CI_{80}) de hR198_HG1/IG1, hR198_HG1-LALA/IG1, 2C1.1, 5H3.1, 10F8, 14F74 y 17F6 frente a la liberación de IL-2 de células Jurkat.

[Figura 14] La Figura 14 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una región variable de cadena ligera de R118 y una secuencia de aminoácidos de la región variable.

[Figura 15] La Figura 15 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una región variable de cadena pesada de R118 y una secuencia de aminoácidos de la región variable.

[Figura 16] La Figura 16 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una región variable de cadena ligera de R198 y una secuencia de aminoácidos de la región variable.

[Figura 17] La Figura 17 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una región variable de cadena pesada de R198 y una secuencia de aminoácidos de la región variable.

[Figura 18] La Figura 18 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera de cR118 quimerizado humano y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera.

[Figura 19] La Figura 19 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera de cR198 quimerizado humano y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera.

[Figura 20] La Figura 20 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de cR118 quimerizado humano y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 21] La Figura 21 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de cR198 quimerizado humano y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 22] La Figura 22 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera de tipo hR198_L1 y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera.

[Figura 23] La Figura 23 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera de tipo hR198_L2 y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera.

[Figura 24] La Figura 24 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera de tipo hR198_L3 y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera.

[Figura 25] La Figura 25 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera de tipo hR198_L4 y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera.

[Figura 26] La Figura 26 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de tipo hR198_H1 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 27] La Figura 27 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de tipo hR198_H2 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 28] La Figura 28 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de tipo hR198_H3 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 29] La Figura 29 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de tipo hR198_H4 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 30] La Figura 30 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera de tipo hR198_LG1 y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera.

[Figura 31] La Figura 31 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera de tipo hR198_LG2 y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera.

[Figura 32] La Figura 32 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera de tipo hR198_LG3 y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera.

[Figura 33] La Figura 33 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de tipo hR198_HG1 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 34] La Figura 34 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de tipo hR198_HG2 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 35] La Figura 35 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de tipo hR198_HG3 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 36] La Figura 36 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de tipo hR198_H4-LALA y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 37] La Figura 37 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de tipo hR198_HG1-LALA y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 38] La Figura 38 es un diagrama que muestra las SEQ ID NO correspondientes a las secuencias de las CDR (regiones determinantes de la complementariedad) contenidas en cada una de las cadenas ligeras de cR118, cR198, hR198_L1 a hR198_L4 y hR198_LG1 a hR198_LG3 y en cada una de las cadenas pesadas de cR118, cR198, hR198_H1 a hR198_H4, hR198_HG1 a hR198_HG3, hR198_H4-LALA y hR198_HG1-LALA.

[Figura 39] La Figura 39 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de anticuerpo 2C1.1 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 40] La Figura 40 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera de anticuerpo 2C1.1 y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera.

[Figura 41] La Figura 41 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de anticuerpo 5H3.1 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 42] La Figura 42 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera de anticuerpo 5H3.1 y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera.

[Figura 43] La Figura 43 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena

pesada de anticuerpo 10F8 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 44] La Figura 44 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera de anticuerpo 10F8 y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera.

[Figura 45] La Figura 45 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de anticuerpo 14F74 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 46] La Figura 46 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera de anticuerpo 14F74 y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera.

[Figura 47] La Figura 47 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de anticuerpo 17F6 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 48] La Figura 48 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera de anticuerpo 17F6 y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera.

[Figura 49] La Figura 49 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de tipo hR198_H0 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 50] La Figura 50 es un diagrama que muestra una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de tipo hR198_H5 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada.

[Figura 51] La Figura 51 es un diagrama que muestra que cada uno de los anticuerpos monoclonales anti Orai1 inhibe, de una manera dependiente de la concentración, la liberación de IL-2 de CMSP humana tratadas con PMA y A23187.

[Figura 52] La Figura 52 es un diagrama que muestra las concentraciones inhibitoras semimáximas (del 50 %) (CI_{50}) y las concentraciones inhibitoras del 80 % (CI_{80}) de hR198_HG1/IG1, hR198_HG1-LALA/IG1, 2C1.1, 5H3.1, 10F8, 14F74 y 17F6 frente a la liberación de IL-2 de CMSP humana.

[Figura 53] La Figura 53 es un diagrama que muestra que cada uno de los anticuerpos monoclonales anti-Orai1 inhibe, de una manera dependiente de la concentración, la liberación de IFN- γ de CMSP humana tratadas con PMA y A23187.

[Figura 54] La Figura 54 es un diagrama que muestra las concentraciones inhibitoras semimáximas (del 50 %) (CI_{50}) y las concentraciones inhibitoras del 80 % (CI_{80}) de hR198_HG1/IG1, hR198_HG1-LALA/IG1, 2C1.1, 5H3.1, 10F8, 14F74 y 17F6 frente a la liberación de IFN- γ de CMSP humana.

[Figura 55] La Figura 55 es un diagrama que muestra que hR198_HG1/IG1 inhibe la pérdida de peso asociada a la enfermedad del injerto contra el hospedador que se desarrolla mediante el trasplante de CMSP humana en ratones con inmunodeficiencia combinada grave. [Figura 56] La Figura 56 es un diagrama que muestra que hR198_HG1/IG1 suprime la reacción de anafilaxia cutánea pasiva inducida en ratones con inserción (*knock-in mice*) del gen Orai1 humano.

[Figura 57] La Figura 57 es un diagrama que muestra que hR198_HG1/IG1 suprimió la reacción de hipersensibilidad retardada inducida en ratones con inserción del gen Orai1 humano, en cada punto temporal de 6 horas (A), 24 horas (B) y 48 horas (C) después de la administración del antígeno.

[Figura 58] La Figura 58 es un diagrama que muestra la viscosidad medida a concentraciones de 90 mg/ml, 120 mg/ml y 150 mg/ml, de los anticuerpos hR198_HG1/IG1, hR198_H3/IG1, hR198_HG1-LALA/IG1 y 2C1.1.

Descripción de las realizaciones

En la presente memoria descriptiva, el término "gen" no solo incluye ADN sino también ARNm, ADNc y ARNc.

En la presente memoria descriptiva, el término "polinucleótido" se usa con el mismo significado que un ácido nucleico y también incluye ADN, ARN, sondas, oligonucleótidos y cebadores.

En la presente memoria descriptiva, los términos "polipéptido" y "proteína" se usan indistintamente entre sí.

En la presente memoria descriptiva, la expresión "fracción de ARN" se refiere a una fracción que contiene ARN.

En la presente memoria descriptiva, el término "célula" incluye células que están en el interior de animales individuales y células cultivadas.

En la presente memoria descriptiva, el término "Orai1" se usa con el mismo significado que proteína Orai1.

En la presente memoria descriptiva, la expresión "fragmento de unión a antígeno del anticuerpo", significa un fragmento parcial del anticuerpo que tiene actividad de unión contra el antígeno e incluye Fab, F(ab')₂, Fv, scFv, diacuerpos, anticuerpos lineales y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo, etc.

El fragmento de unión a antígeno del anticuerpo también incluye Fab', que es un fragmento monovalente de regiones variables de anticuerpos obtenidas mediante el tratamiento de F(ab')₂ en condiciones reductoras. Sin embargo, el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, no se limita a estas moléculas siempre que el fragmento de unión a antígeno tenga la capacidad de unirse al antígeno. Dicho fragmento de unión a antígeno no solo incluye un fragmento obtenido tratando una molécula de longitud completa de la proteína del anticuerpo con una enzima apropiada, sino también una proteína producida en células hospedadoras apropiadas usando un gen de anticuerpo genomodificado.

Se sabe que cada una de las cadenas pesada y ligera de una molécula de anticuerpo tiene tres regiones determinantes de la complementariedad (CDR, por las siglas del inglés *complementarity determining regions*). Las

regiones determinantes de la complementariedad también reciben el nombre de dominios hipervariables. Estas regiones se localizan en las regiones variables de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo. Estos sitios tienen una estructura primaria particularmente muy variable y están separados en tres posiciones en las respectivas estructuras primarias de las cadenas polipeptídicas pesada y ligera. En la presente memoria descriptiva, las regiones determinantes de la complementariedad del anticuerpo reciben el nombre de CDRH1, CDRH2 y CDRH3 desde el extremo amino de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada para las regiones determinantes de la complementariedad de la cadena pesada y CDRL1, CDRL2 y CDRL3 desde el extremo amino de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera para las regiones determinantes de la complementariedad de la cadena ligera. Estos sitios están próximos entre sí en la estructura tridimensional y determinan la especificidad por el antígeno al que se van a unir.

En la presente invención, la frase "hibridación en condiciones rigurosas" significa hibridación en condiciones que implican hibridación a 68 °C en una solución de hibridación disponible en el comercio, solución de hibridación ExpressHyb (Clontech Laboratories, Inc.), o hibridación a 68 °C en presencia de NaCl a una concentración de 0,7 a 1,0 M, usando un filtro de ADN inmovilizado, seguido de lavado a 68°C usando una solución de SSC que tiene una concentración de 0,1 a 2 x (una solución de SSC que tiene una concentración 1 x que consiste en NaCl 150 mM y citrato de sodio 15 mM) que permita la identificación, o la hibridación en condiciones equivalentes a las mismas.

En la presente invención, la expresión "reacción del hospedador contra el injerto", se refiere al estado hiperinmune de un receptor, observado después del trasplante de un órgano, y el daño al órgano trasplantado resultante del mismo.

En la presente invención, la expresión "enfermedad del injerto contra el hospedador" se refiere a los síntomas manifestados por el ataque inmunológico de un receptor por las células trasplantadas después del trasplante de células hematopoyéticas.

1. Orai1

Orai1 usado en la presente invención puede purificarse directamente a partir de linfocitos T o mastocitos de un ser humano, un mamífero no humano (p. ej., una cobaya, una rata, un ratón, un conejo, un cerdo, una oveja, ganado bovino o un mono), o de un pollo, o puede usarse en una fracción de membrana celular preparada a partir de las células. Como alternativa, Orai1 se puede sintetizar *in vitro* u obtenerse por producción a partir de células hospedadoras mediante manipulación genética. En dicha manipulación genética, específicamente, el ADNc de Orai1 se inserta en un vector que permita la expresión, y después Orai1 se puede sintetizar en una solución que contenga una enzima, un sustrato y una sustancia energética necesaria para la transcripción y la traducción, o que se exprese por transformación de células hospedadoras de un procariota o eucariota diferente para obtener la proteína.

La secuencia de nucleótidos del ADNc de Orai1 de ser humano está registrada en GenBank con el número de referencia: NM_032790. La secuencia de nucleótidos del ADNc de Orai1 de ratón, está registrada en GenBank con el número de referencia: NM_175423. La secuencia de nucleótidos que codifica Orai1 de ser humano se muestra en la SEQ ID NO: 1 del Listado de Secuencias, y la secuencia de aminoácidos de Orai1 de ser humano se muestra en la SEQ ID NO: 2 del Listado de Secuencias. Orai1 también recibe el nombre de modulador 1 de calcio activado por la liberación de calcio (CRACM1) o proteína transmembrana 142A (TMEM142A), indicando todos esos nombres la misma molécula.

El ADNc de Orai1 puede obtenerse mediante un procedimiento denominado PCR que implica llevar a cabo la reacción en cadena de la polimerasa (en adelante, denominada "PCR", por las siglas del inglés *polymerase chain reaction*) (Saiki, R.K., y col., Science, (1988) 239, 487-49), por ejemplo, con una biblioteca de ADNc de órganos que, como molde, expresan ARNm de Orai1, usando cebadores que amplifican específicamente el ADNc de Orai1.

La expresión "ADNc de Orai1" también incluye un polinucleótido que hibrida en condiciones rigurosas con un polinucleótido que consiste en una secuencia de nucleótidos complementaria a la secuencia de nucleótidos que codifica Orai1 de ser humano o de ratón y que codifica una proteína que tiene actividad biológica equivalente a la de Orai1. La expresión "ADNc de Orai1" incluye además un ADNc para una variante de corte y empalme que se ha transcrito del locus del gen Orai1 de ser humano o de ratón, o un polinucleótido que hibrida en condiciones rigurosas con un polinucleótido que consiste en una secuencia de nucleótidos complementaria a la variante de empalme, y que codifica una proteína que tiene una actividad biológica equivalente a la de Orai1.

El término "Orai1" también incluye una proteína que consiste en una secuencia de aminoácidos obtenida de la secuencia de aminoácidos de Orai1 de ser humano o de ratón, o en una secuencia de aminoácidos de la misma sin la secuencia señal por sustitución, delección o adición de 1, 2 o 3, o 4 o 5 aminoácidos, y que tiene una actividad biológica equivalente a la de Orai1. El término "Orai1" comprende además una proteína que consiste en una secuencia de aminoácidos codificada por una variante de corte y empalme transcrita del locus del gen Orai1 de ser humano o de ratón, o en una secuencia de aminoácidos obtenida de esta secuencia de aminoácidos por sustitución, delección o adición de 1, 2 o 3, o 4 o 5 aminoácidos, y que tiene una actividad biológica equivalente a la de Orai1.

2. Producción del anticuerpo anti Orai1

El anticuerpo contra Orai 1 de la presente invención, puede obtenerse según procedimientos habituales, inmunizando a un animal con Orai1 o con un polipéptido arbitrario seleccionado de la secuencia de aminoácidos de Orai1 y recogiendo y purificando el anticuerpo producido *in vivo*. La especie de Orai1 que se usa como antígeno no se limita a un ser humano, y el animal puede inmunizarse con Orai1 obtenido de un animal no humano tal como un

ratón o una rata. En este caso, la unión del anticuerpo obtenido con el Orai1 heterólogo, se puede analizar para determinar su reactividad cruzada con Orai1 de ser humano para seleccionar un anticuerpo aplicable a enfermedades humanas. El antígeno Orai1 puede obtenerse permitiendo que células hospedadoras produzcan el gen Orai1 mediante genomanipulación. Específicamente, se prepara un vector que permita la expresión del gen Orai1 y se transfiere a las células hospedadoras para expresar el gen. El Orai1 expresado se puede purificar.

El anticuerpo contra Orai1 de la presente invención también se puede obtener usando un procedimiento de inmunización con ADN. El procedimiento de inmunización con ADN es una estrategia que implica transfectar un animal (por ejemplo, un ratón o una rata) con un plásmido de expresión de antígeno y expresar el antígeno en el animal para inducir inmunidad contra el antígeno. La estrategia de transfección incluye un procedimiento de inyectar directamente el plásmido en el músculo, un procedimiento de inyectar un complejo del plásmido y un liposoma, polietilenimina, o similar, en una vena, una estrategia usando un vector vírico, una estrategia que consiste en la inyección de partículas de oro fijadas al plásmido usando un cañón de genes, un procedimiento hidrodinámico de inyectar rápidamente, en una vena, una cantidad considerable de una solución de plásmido, y procedimientos similares. Una técnica denominada electroporación *in vivo*, que implica aplicar electroporación en un lugar donde se ha inyectado el plásmido por vía intramuscular, se conoce como una estrategia para mejorar el nivel de expresión del procedimiento de transfección de inyectar el plásmido de expresión en el músculo (Aihara H, Miyazaki J., Nat Biotechnol. Sep de 1998; 16 (9): 867-70 o Mir LM, Bureau MF, Gehl J, Rangara R, Rouy D, Caillaud JM, Delaere P, Branellec D, Schwartz B, Scherman D., Proc Natl Acad Sci USA. 13 de abril de 1999; 96 (8): 4262-7). Esta estrategia mejora aún más el nivel de expresión al tratar el músculo con hialuronidasa antes de la inyección intramuscular del plásmido (McMahon JM1, Signori E, Wells KE, Fazio VM, Wells DJ., Gene Ther. Agosto de 2001; 8 (16): 1264-70).

También se puede obtener un anticuerpo monoclonal según procedimientos conocidos en la técnica (por ejemplo, Kohler y Milstein, Nature (1975) 256, págs. 495-497; y Kennet, R. ed., Monoclonal Antibodies, págs. 365-367, Plenum Press, N.Y. (1980)) fusionando células productoras de anticuerpos que producen el anticuerpo contra Orai1, con células de mieloma para establecer hibridomas. En las publicaciones internacionales n.º WO09/48072 (publicada el 16 de abril de 2009) y WO10/117011 (publicada el 14 de octubre de 2010), se describen ejemplos específicos de dicho procedimiento.

Como ejemplos reales del anticuerpo de rata anti Orai1 de ser humano así establecidos, pueden incluirse los anticuerpos R118 y R198. La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera del anticuerpo R118 se muestra en la SEQ ID NO: 11 del Listado de Secuencias, y la secuencia de la región variable de cadena pesada del anticuerpo R118 se muestra en la SEQ ID NO: 13 de dicho listado. La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera del anticuerpo R198 se muestra en la SEQ ID NO: 15 del Listado de Secuencias, y la secuencia de la región variable de cadena pesada del anticuerpo R198 se muestra en la SEQ ID NO: 17 de dicho listado.

El anticuerpo de la presente invención incluye el anticuerpo monoclonal contra Orai1 descrito anteriormente, así como un anticuerpo recombinante genomodificado artificialmente con el fin de, por ejemplo, reducir la antigenicidad heterogénea contra seres humanos, por ejemplo, un anticuerpo quimérico y un anticuerpo humanizado, un anticuerpo humano, y similares. Estos anticuerpos se pueden producir usando procedimientos conocidos.

Como ejemplos del anticuerpo quimérico puede incluirse un anticuerpo quimérico que comprenda regiones variables y regiones constantes de anticuerpos obtenidas de especies diferentes, por ejemplo, las regiones variables de un anticuerpo procedente de ratón o de rata unidas a regiones constantes procedentes de ser humano (véase Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 6851-6855, (1984)).

Como ejemplos del anticuerpo quimérico obtenido del anticuerpo de rata anti Orai 1 de ser humano, R118, puede incluirse un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que comprende una región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 126 de la SEQ ID NO: 23 y en una cadena pesada que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 136 de la SEQ ID NO: 27. Un ejemplo de dicho anticuerpo quimérico procedente de R118, puede incluir un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 234 de la SEQ ID NO: 23 y en una cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 466 de la SEQ ID NO: 27. En la presente memoria descriptiva, este anticuerpo se denomina "cR118" o "anticuerpo cR118".

Como ejemplos del anticuerpo quimérico obtenido del anticuerpo de rata anti Orai 1 de ser humano, R198, puede incluirse un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que comprende una región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 126 de la SEQ ID NO: 25 y en una cadena pesada que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 136 de la SEQ ID NO: 29. Un ejemplo de dicho anticuerpo quimérico obtenido de R198, puede incluir un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 234 de la SEQ ID NO: 25 y en una cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 466 de la SEQ ID NO: 29.

En la presente memoria descriptiva, este anticuerpo se denomina "cR198" o "anticuerpo cR198".

La secuencia del anticuerpo quimérico contra Orai1 descrita anteriormente, se puede genomodificar artificialmente para preparar un anticuerpo humanizado como un anticuerpo génico recombinante, con el fin de, por ejemplo, reducir la antigenicidad heterogénea contra seres humanos. El anticuerpo de la presente invención incluye un anticuerpo cuyas CDR son CDR genomodificadas de un anticuerpo humanizado. Estos anticuerpos se pueden producir usando procedimientos conocidos.

Como ejemplos del anticuerpo humanizado puede incluirse un anticuerpo que comprenda solo regiones determinantes de la complementariedad (CDR) injertadas en un anticuerpo obtenido de ser humano (véase Nature (1986) 321, págs. 522-525), y un anticuerpo que comprenda las secuencias de CDR así como restos de aminoácido de una parte de la región marco conservada injertada en un anticuerpo humano (publicación internacional N.º WO90/07861).

El anticuerpo humanizado obtenido del anticuerpo cR118 o cR198, conserva las 6 secuencias de CDR obtenidas de cR118 o cR198 y tiene la actividad de inhibir la activación de linfocitos T. La región variable de cadena ligera del anticuerpo humanizado conserva una cualquiera de una CDRL1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 92 (RASQSIGNSL) y una CDRL1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 116 (RASQSIGNSL), una CDRL2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 96 (STSTLES), y una cualquiera de una CDRL3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 99 (LQFATFPDT) y una CDRL3 mostrada en la SEQ ID NO: 100 (LQFATYPDT). Asimismo, la región variable de la cadena pesada del anticuerpo humanizado conserva una cualquiera de una CDRH1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 102 (AYYIS) y una CDRH1 mostrada en la SEQ ID NO: 103 (SYIIS), una cualquiera de una CDRH2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 104 (YIDMGNGRTNYNARFKG) y una CDRH2 mostrada en la SEQ ID NO: 105 (YVDMGNGRTNYNEKFKG), y una CDRH3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 109 (DSNWGVVDY). Estas secuencias de aminoácidos de las CDR, también se muestran en la Figura 38.

Como ejemplos del anticuerpo que tiene una combinación preferida de las CDR puede incluirse un anticuerpo que comprende una CDRL1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 92, una CDRL2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 96, una CDRL3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 100, una CDRH1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 103, una CDRH2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 105 y una CDRH3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 109, y un anticuerpo que comprende una CDRL1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 92, una CDRL2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 96, una CDRL3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 99, una CDRH1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 102, una CDRH2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 104 y una CDRH3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 109.

Como ejemplos preferidos del anticuerpo humanizado puede incluirse un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que comprende una región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 126 de la SEQ ID NO: 31 y en una cadena pesada que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 136 de la SEQ ID NO: 39, un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que comprende una región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 126 de la SEQ ID NO: 33 y en una cadena pesada que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 136 de la SEQ ID NO: 41, un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que comprende una región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 126 de la SEQ ID NO: 35 y en una cadena pesada que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 136 de la SEQ ID NO: 43, y un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que comprende una región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 126 de la SEQ ID NO: 37 y en una cadena pesada que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 136 de la SEQ ID NO: 45.

Como ejemplos más preferidos de los mismos puede incluirse un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 234 de la SEQ ID NO: 31 y en una cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 466 de la SEQ ID NO: 39, un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 234 de la SEQ ID NO: 33 y en una cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 466 de la SEQ ID NO: 41, un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 234 de la SEQ ID NO: 35 y en una cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 466 de la SEQ ID NO: 43, y un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 234 de la SEQ ID NO: 37 y en una cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 466 de la SEQ ID NO: 45.

El anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo con capacidad mejorada para unirse a Orai1 obtenido mediante la mutación adicional del anticuerpo humanizado descrito anteriormente. Esta estrategia recibe el nombre de maduración por afinidad. Como ejemplos específicos del procedimiento puede incluirse un procedimiento de presentación en ribosomas. El procedimiento de presentación en ribosomas es un procedimiento que implica el uso de un complejo tripartito de una proteína unida, a través de un ribosoma, a un ARNm que tiene la información genética de la misma, y el aislamiento de una secuencia génica que codifica la proteína que se une a una molécula diana (Stafford RL. y col., Protein Eng. Des. Sel. 2014 (4): 97-109).

La región variable de cadena ligera del anticuerpo genomodificado mediante el procedimiento descrito anteriormente, conserva una cualquiera de una CDRL1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 93 (RASQSIGGSLS), una CDRL1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 94 (HASQNIGGSLS) y una CDRL1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 95 (HASRNIGGSLS), una cualquiera de una CDRL2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 96 (STSTLES), una CDRL2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 97 (LTSTLDW) y una CDRL2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 98 (LTSSLDW), y una CDRL3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 101 (LQFAIFPDS). Asimismo, la región variable de cadena pesada del anticuerpo genomodificado conserva una CDRH1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 102 (AYYIS), una cualquiera de una CDRH2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 104 (YIDMGNGRTNYNARFKG), una CDRH2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 106 (YIDMGNGRTDYNARFKG), una CDRH2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 107 (YIDMGNGRTDYNGRFGK) y una CDRH2 mostrada en la SEQ ID NO: 108 (YIDMGNGRTDYNMRFGK), y una CDRH3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 109 (DSNWGVVDY) o una CDRH3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 110 (DSNWGADY). Estas secuencias de aminoácidos de las CDR, también se muestran en la Figura 38.

Como ejemplos del anticuerpo que tiene una combinación preferida de las CDR puede incluirse un anticuerpo que comprende una CDRL1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 93, una CDRL2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 96, una CDRL3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 101, una CDRH1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 102, una CDRH2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 106, y una CDRH3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 110, un anticuerpo que comprende una CDRL1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 94, una CDRL2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 97, una CDRL3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 101, una CDRH1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 102, una CDRH2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 106, y una CDRH3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 110, un anticuerpo que comprende una CDRL1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 95, una CDRL2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 98, una CDRL3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 101, una CDRH1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 102, una CDRH2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 106, y una CDRH3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 110, un anticuerpo que comprende una CDRL1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 93, una CDRL2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 96, una CDRL3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 101, una CDRH1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 102, una CDRH2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 108, y una CDRH3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 110, y un anticuerpo que comprende una CDRL1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 93, una CDRL2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 96, una CDRL3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 101, una CDRH1 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 102, una CDRH2 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 104, y una CDRH3 que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 109.

Como ejemplos preferidos del anticuerpo genomodificado con CDR puede incluirse un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que comprende una región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 126 de la SEQ ID NO: 56 y una cadena pesada que comprende región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 136 de la SEQ ID NO: 62, un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que comprende una región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en

las posiciones 21 a 126 de la SEQ ID NO: 58 y en una cadena pesada que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 136 de la SEQ ID NO: 62, un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que comprende una región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 126 de la SEQ ID NO: 60 y en una cadena pesada que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 136 de la SEQ ID NO: 62, un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que comprende una región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 126 de la SEQ ID NO: 56 y en una cadena pesada que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 136 de la SEQ ID NO: 64, un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que comprende una región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 126 de la SEQ ID NO: 56 y en una cadena pesada que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 136 de la SEQ ID NO: 66, y un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que comprende una región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 126 de la SEQ ID NO: 56 y en una cadena pesada que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 136 de la SEQ ID NO: 43.

Como ejemplos preferidos del anticuerpo que comprende la región variable de la cadena ligera y la región variable de la cadena pesada descritos anteriormente puede incluirse un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 234 de la SEQ ID NO: 56 y en una cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 466 de la SEQ ID NO: 62, un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 234 de la SEQ ID NO: 58 y en una cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 466 de la SEQ ID NO: 62, un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 234 de la SEQ ID NO: 60 y en una cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 466 de la SEQ ID NO: 62, un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 234 de la SEQ ID NO: 56 y en una cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 466 de la SEQ ID NO: 64, un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 466 de la SEQ ID NO: 64, un anticuerpo que consiste en una cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 466 de la SEQ ID NO: 66, y un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 234 de la SEQ ID NO: 56 y en una cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 466 de la SEQ ID NO: 43.

Para eludir la citotoxicidad contra células normales que expresan Orai1 humana, es deseable que un anticuerpo tenga baja actividad efectora. Se sabe que la actividad efectora difiere entre las subclases de anticuerpos. Se observan las siguientes características, por ejemplo, la IgG4 tiene bajas actividades de ADCC (siglas del inglés, *antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos) y de CDC (siglas del inglés, *complement-dependent cytotoxicity*, citotoxicidad dependiente de complemento) y la IgG2 tiene actividad de CDC, pero tiene baja actividad de ADCC. En función de estas características, es posible preparar un anticuerpo con actividades de ADCC y CDC reducidas reemplazando las regiones constantes de IgG1 por las regiones constantes de IgG2 o IgG4. Asimismo, es posible preparar un anticuerpo de IgG1 con actividades de ADCC y CDC reducidas sustituyendo parcialmente las secuencias de la región constante de IgG1 con respecto a IgG2 o IgG4. Como ejemplo, Marjan Hezareh y col., *Journal of Virology*, 75 (24): 12161-12168 (2001), muestran que las actividades de ADCC y CDC de IgG1 se reducen reemplazando cada uno de los restos de leucina en las posiciones 234 y 235 (las posiciones se indican son las del índice EU de Kabat y col.) de IgG1 por un resto de alanina.

Los ejemplos de la cadena pesada del anticuerpo anti Orai1 preparado mediante el procedimiento descrito anteriormente, pueden incluir una secuencia de cadena pesada mostrada en la SEQ ID NO: 68 o 70. La cadena pesada mostrada en la SEQ ID NO: 68 o 70, puede combinarse con cada una de las secuencias de cadena ligera descritas en la presente memoria descriptiva y usarse como anticuerpo terapéutico. Los ejemplos específicos de la cadena ligera que se va a combinar pueden incluir la cadena ligera descrita en las SEQ ID NO: 31, 33, 35, 37, 56, 58 o 60. Los ejemplos del anticuerpo que tiene una combinación preferida de la cadena ligera y la cadena pesada pueden incluir un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 234 de la SEQ ID NO: 56 y en una cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 466 de la SEQ ID NO: 70, un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 234 de la SEQ ID NO: 58 y en una cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 466 de la SEQ ID NO: 70, y un anticuerpo que consiste en una cadena ligera que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 21 a 234 de la SEQ ID NO: 60 y en una cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 466 de la SEQ ID NO: 70.

Se sabe que, en las cadenas pesadas de los anticuerpos producidos en células de mamífero cultivadas, los restos de lisina del extremo carboxílico están delecionados (*Journal of Chromatography A*, 705: 129-134 (1995)). También se sabe que, en las cadenas pesadas, dos restos de aminoácido (glicina y lisina) del extremo carboxílico, están delecionados y que un resto de prolina recién colocado en el extremo carboxílico está amidado (*Analytical Biochemistry*, 360: 75-83 (2007)). Sin embargo, dichas delección y modificación de las secuencias de la cadena pesada, no influyen en la capacidad del anticuerpo para unirse con el antígeno ni en las funciones efectoras (activación dependiente de complemento y efecto citotóxico celular dependiente de anticuerpos, etc.) del anticuerpo. Por tanto, el anticuerpo de la presente invención también incluye un anticuerpo modificado de esta manera. Los

ejemplos del mismo pueden incluir un mutante por delección obtenido por la delección de 1 o 2 aminoácidos en el extremo carboxílico de la cadena pesada, y una forma amidada de este mutante por delección (por ejemplo, una cadena pesada amidada en el resto de prolina en el lugar del extremo carboxílico). Sin embargo, el mutante por delección del extremo carboxílico de la cadena pesada del anticuerpo según la presente invención, no se limita a los tipos descritos anteriormente siempre que el mutante por delección conserve la capacidad de unirse al antígeno y las funciones efectoras. Dos cadenas pesadas que constituyen el anticuerpo según la presente invención, pueden ser cualquier tipo de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en cadenas pesadas de longitud completa y las cadenas pesadas de los mutantes por delección descritos anteriormente, o pueden ser una combinación de dos tipos cualesquiera seleccionados de entre ellos. La proporción cuantitativa de cada mutante por delección puede verse influida por el tipo y las condiciones de cultivo de las células de mamífero cultivadas que producen el anticuerpo según la presente invención. Los ejemplos del componente principal del anticuerpo según la presente invención, pueden incluir dos cadenas pesadas, ambas de las cuales carecen de un resto de aminoácido en el extremo carboxílico. Específicamente, en el anticuerpo de la presente invención, también puede usarse una cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 465 en una secuencia de cadena pesada mostrada en cada una de las SEQ ID NO: 27, 29, 39, 41, 43, 45, 62, 64, 66, 68 y 70 del Listado de Secuencias, o una cadena pesada que consiste en restos de aminoácido en las posiciones 20 a 464 de las mismas.

La actividad de unión contra el antígeno de los anticuerpos obtenidos mediante estos procedimientos, puede evaluarse para seleccionar un anticuerpo adecuado. Un ejemplo de otro indicador para comparar las propiedades de los anticuerpos, puede incluir la estabilidad de los anticuerpos. La calorimetría de barrido diferencial (DSC, por las siglas del inglés *differential scanning calorimetry*) es un procedimiento capaz de medir de forma rápida y precisa un punto medio de desnaturalización térmica (T_m), que sirve como un buen indicador de estabilidad estructural relativa de las proteínas. Los valores de T_m pueden medirse usando DSC y compararse para determinar la estabilidad térmica característica. Se sabe que la estabilidad de almacenamiento de un anticuerpo se correlaciona con la estabilidad térmica del anticuerpo hasta cierto punto (Lori Burton, y col., *Pharmaceutical Development and Technology* (2007) 12, págs. 265-273). Puede seleccionarse un anticuerpo adecuado con estabilidad térmica como indicador. Como ejemplos de otros indicadores para seleccionar el anticuerpo, pueden incluirse altos rendimientos en células hospedadoras apropiadas y baja agregación en una solución acuosa. Por ejemplo, dado que no siempre es cierto que un anticuerpo con el mayor rendimiento presente la mayor estabilidad térmica, un anticuerpo más adecuado para su administración a seres humanos debe seleccionarse mediante un juicio sintético basado en los indicadores mencionados anteriormente.

También se conoce un procedimiento para obtener una inmunoglobulina monocatenaria enlazando las secuencias de cadena ligera y pesada de longitud completa del anticuerpo mediante un enlazador apropiado (Lee, H-S, y col., *Molecular Immunology* (1999) 36, págs. 61-71; y Schirrmann, T. y col., *mAbs* (2010), 2 (1) págs. 73-76). Dicha inmunoglobulina monocatenaria se puede dimerizar para conservar de este modo una estructura y actividades similares a las del anticuerpo, que es originalmente un tetrámero. Asimismo, el anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo que tenga una sola región variable de cadena pesada y que no tenga ninguna secuencia de cadena ligera. Un anticuerpo de este tipo, denominado anticuerpo de un solo dominio (sdAb, por las siglas del inglés *single domain antibody*) o nanocuerpo, se ha observado de hecho en camellos y en llamas y se ha informado que conserva la capacidad de unirse al antígeno (Muyldemans S. y col., *Protein Eng.* (1994) 7 (9), 1129-35; and Hamers-Casterman C. y col., *Nature* (1993) 363 (6428), 446-8). Estos anticuerpos pueden interpretarse como un tipo de fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según la presente invención.

La actividad citotóxica celular dependiente de anticuerpos del anticuerpo de la presente invención, se puede mejorar ajustando la modificación de una cadena de azúcar unida al anticuerpo. Por ejemplo, los procedimientos descritos en los documentos WO99/54342, WO00/61739 y WO02/31140, se conocen como ejemplos de dicha técnica para ajustar la modificación de una cadena de azúcar de un anticuerpo, aunque esta técnica no se limita a los mismos.

En el caso de preparar un anticuerpo aislando temporalmente el gen del anticuerpo y después transfiriéndolo a un hospedador apropiado, el hospedador apropiado puede usarse en combinación con un vector de expresión. Los ejemplos específicos del gen del anticuerpo pueden incluir una combinación de un gen que codifique una secuencia de cadena pesada y un gen que codifique una secuencia de cadena ligera del anticuerpo descrito en la presente memoria descriptiva. Para la transformación de células hospedadoras, el gen de secuencia de cadena pesada y el gen de secuencia de cadena ligera pueden insertarse en el mismo vector de expresión o pueden insertarse en vectores de expresión distintos. En el caso de usar células eucariotas hospedadoras, pueden usarse células animales, vegetales o microbios eucariotas. Como ejemplos de células animales pueden incluirse células de mamífero, por ejemplo, células COS de mono (Gluzman, Y., *Cell* (1981) 23, págs. 175-182, ATCC CRL-1650), fibroblastos NIH3T3 de ratón (ATCC N.º CRL-1658) y líneas deficientes en dihidrofolato reductasa (Urlaub, G. y Chasin, L.A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (1980) 77, págs. 4126-4220) de células de ovario de hámster chino (células CHO, ATCC CCL-61). En el caso de usar células procariotas, como ejemplos de las mismas pueden incluirse las especies de bacterias *E. coli* y *Bacillus subtilis*. El gen del anticuerpo de interés se transfiere a estas células mediante transformación y las células transformadas se cultivan *in vitro* para obtener el anticuerpo. El rendimiento de dicho procedimiento de cultivo puede diferir dependiendo de la secuencia del anticuerpo. Como fármaco, puede seleccionarse un anticuerpo que sea fácil de producir, usando, como indicador, su rendimiento, de entre los anticuerpos que tienen una actividad de unión equivalente.

Como ejemplos del isotipo del anticuerpo de la presente divulgación pueden incluirse, aunque sin limitación, IgG (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4), IgM, IgA (IgA1 e IgA2), IgD e IgE. El isotipo puede ser, preferentemente, IgG o IgM, más preferentemente, IgG1 o IgG2.

5 El anticuerpo de la presente invención puede ser un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo que tiene el sitio de unión a antígeno del anticuerpo, o una forma modificada del mismo. El fragmento de anticuerpo se puede obtener tratando el anticuerpo con una enzima proteolítica, tal como papaína o pepsina, o expresando un gen de anticuerpo genomodificado en células cultivadas apropiadas. Entre dichos fragmentos de anticuerpo, un fragmento que conserve todas las funciones, o una parte de las funciones, que posee la molécula de longitud completa del anticuerpo, puede recibir el nombre de fragmento de unión a antígeno del anticuerpo.

10 Como ejemplos de las funciones del anticuerpo pueden incluirse, en general, la actividad de unirse con el antígeno, la actividad de neutralizar la actividad del antígeno, la actividad de mejorar la actividad del antígeno, la actividad citotóxica celular dependiente de anticuerpos, la actividad citotóxica dependiente de complemento y la actividad citotóxica celular dependiente de complemento. La función que posee el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según la presente invención, es la actividad de unión contra Orai1 y es, preferentemente, la actividad de inhibir la activación de linfocitos T, más preferentemente la actividad de inhibir la producción de IL-2 y/o interferón y por los linfocitos T.

15 Como ejemplos del fragmento del anticuerpo pueden incluirse Fab, F(ab')₂, Fv, Fv monocatenario (scFv) que comprende Fv de cadena pesada y ligera enlazados a través de un enlazador apropiado, diacuerpos, anticuerpos lineales y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo. El fragmento del anticuerpo también incluye Fab', que es un fragmento monovalente de regiones variables de anticuerpos obtenidas mediante el tratamiento de F(ab')₂ en condiciones reductoras.

20 El anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo multiespecífico que tenga especificidad por al menos dos tipos diferentes de antígenos. Dicha molécula normalmente se une a dos tipos de antígenos (es decir, un anticuerpo biespecífico). El "anticuerpo multiespecífico" según la presente invención, abarca un anticuerpo que tiene especificidad por más tipos (por ejemplo, 3 tipos) de antígenos.

25 El anticuerpo multiespecífico de la presente invención puede ser un anticuerpo que consista en un anticuerpo de longitud completa, o puede ser un fragmento de dicho anticuerpo (por ejemplo, anticuerpo biespecífico F(ab')₂). El anticuerpo biespecífico puede prepararse enlazando las cadenas pesada y ligera (pares HL) de dos tipos de anticuerpos, o puede prepararse fusionando hibridomas que producen diferentes anticuerpos monoclonales para preparar células de fusión que producen el anticuerpo biespecífico (Millstein y col., Nature (1983) 305, págs. 537-539).

30 El anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo monocatenario (Fv monocatenario; también denominado "scFv" (por las siglas del inglés *single chain Fv*). El scFv se obtiene enlazando las regiones variables de cadena pesada y ligera del anticuerpo a través de un enlazador polipeptídico (Pluckthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 113 (Rosenberg y Moore ed., Springer Verlag, Nueva York, págs. 269-315 (1994); y Nature Biotechnology (2005), 23, págs. 1126-1136). Asimismo, como anticuerpo biespecífico, también puede usarse un fragmento bi-scFv preparado enlazando dos scFv a través de un enlazador polipeptídico.

35 El procedimiento para preparar el scFv es muy conocido en la técnica (véanse, p. ej., las patentes de Estados Unidos n.º 4.946.778, 5.260.203, 5.091.513 y 5.455.030). En este scFv, la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera están enlazadas a través de un enlazador, preferentemente un enlazador polipeptídico, que las impide formar un conjugado (Huston, J.S. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1988), 85, págs. 5879-5883). En el scFv, la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera, pueden proceder del mismo anticuerpo o de diferentes anticuerpos. Por ejemplo, como enlazador polipeptídico que enlaza estas regiones variables, se usa un péptido monocatenario arbitrario que consiste en 12 a 19 restos.

40 Para obtener el ADN que codifica el scFv, como molde se usa cada parte de ADN que codifica la secuencia de aminoácidos completa o deseada en las secuencias de ADN que codifica la cadena pesada o la región variable de cadena pesada del anticuerpo y de ADN que codifica la cadena ligera o la región variable de cadena ligera del mismo, y se amplifica mediante PCR usando un par de cebadores que flanquea los dos extremos del molde. Posteriormente, el ADN que codifica el resto enlazador polipeptídico se amplifica adicionalmente en combinación con un par de cebadores que flanquea los dos extremos del ADN de modo que el fragmento obtenido pueda enlazarse en sus extremos con los ADN de cadena pesada y ligera, respectivamente.

45 Una vez que se prepara el ADN que codifica el scFv, se puede obtener un vector de expresión que contenga el ADN y un hospedador transformado con el vector de expresión según procedimientos habituales. Además, el hospedador se puede usar para obtener el scFv según procedimientos habituales. Un hospedador puede producir estos fragmentos de anticuerpo obteniendo y expresando el gen de la misma manera que la indicada anteriormente.

50 El anticuerpo de la presente invención se puede multimerizar para potenciar de este modo su afinidad por el antígeno. Los anticuerpos del mismo tipo se pueden multimerizar, o una pluralidad de anticuerpos que reconocen una pluralidad de epítomos, respectivamente, del mismo antígeno se pueden multimerizar. Como ejemplos de un

procedimiento para multimerizar estos anticuerpos puede incluirse la unión de dos scFv con un dominio CH3 de IgG, la unión de los mismos con estreptavidina y la introducción de un motivo hélice-giro-hélice.

- 5 El anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo policlonal, que es una mezcla de varios tipos de anticuerpos anti Orai1 que difieren en la secuencia de aminoácidos. Un ejemplo del anticuerpo policlonal puede incluir una mezcla de varios tipos de anticuerpos que difieren en las CDR. Como anticuerpo policlonal de este tipo, se puede usar un anticuerpo obtenido cultivando una mezcla de células productoras de diferentes anticuerpos, seguido de la purificación de los cultivos (véase el documento WO2004/061104).

Como una forma modificada del anticuerpo, también se puede usar un anticuerpo conjugado con cualquiera de diversas moléculas, tal como polietilenglicol (PEG).

- 10 El anticuerpo de la presente invención también puede ser cualquiera de los conjugados formados por estos anticuerpos con otros fármacos (inmunoconjugados). Como ejemplos de dicho anticuerpo puede incluirse el anticuerpo conjugado con un material radiactivo o con un compuesto que tenga un efecto farmacológico (Nature Biotechnology (2005) 23, págs. 1137-1146).

- 15 El anticuerpo obtenido se puede purificar hasta que sea homogéneo. Para la separación y purificación del anticuerpo, se pueden usar procedimientos habituales de separación y purificación de proteínas. El anticuerpo puede separarse y purificarse mediante una o más estrategias seleccionadas o combinadas de manera apropiada, por ejemplo, cromatografía en columna, filtración a través de un filtro, ultrafiltración, precipitación por adición de sal, diálisis, electroforesis preparativa en gel de poliacrilamida y/o isoelectroenfoque (Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual, Daniel R. Marshak y col. eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press (1996); and Antibodies: A Laboratory Manual. Ed Harlow y David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)), aunque el procedimiento de separación y purificación no se limita a ello.

- 25 Los ejemplos de dicha cromatografía pueden incluir cromatografía de afinidad, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía hidrófoba, cromatografía de filtración en gel, cromatografía de fase inversa y cromatografía de adsorción. Estas estrategias de cromatografía se pueden llevar a cabo usando cromatografía líquida tal como HPLC o FPLC. Como ejemplos de columnas para su uso en la cromatografía de afinidad, se pueden incluir columnas de proteína A y columnas de proteína G. Como ejemplos de columnas de proteína A se pueden incluir Hyper D, POROS y Sepharose F.F. (Pharmacia Corp.). Asimismo, el anticuerpo puede purificarse usando su actividad de unión contra el antígeno con un transportador inmovilizado con antígeno.

3. Fármaco que contiene el anticuerpo anti Orai1

- 30 Un anticuerpo que neutraliza la actividad biológica de Orai1 puede obtenerse de entre los anticuerpos anti Orai1 obtenidos mediante los procedimientos descritos en el párrafo anterior "2. Producción del anticuerpo anti Orai1". Dicho anticuerpo neutralizante de la actividad biológica de Orai1, puede inhibir la actividad biológica *in vivo* de Orai1, es decir, la activación de los canales de calcio activados por la liberación de calcio (canales CRAC) de las células que expresan Orai1 tipificadas por linfocitos T y mastocitos y, como tal, se puede usar farmacéuticamente como agente terapéutico y/o profiláctico para enfermedades provocadas por la activación de los canales CRAC de estas células.

Las enfermedades o afecciones provocadas por la activación de los canales CRAC incluyen rechazo de trasplantes, enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario, enfermedades alérgicas, enfermedades inflamatorias, trombosis y cánceres, etc.

- 40 Los ejemplos del tratamiento y/o de la prevención del rechazo de trasplantes incluyen el tratamiento y/o la prevención de la respuesta de rechazo y la reacción del hospedador contra el injerto en el trasplante de un órgano o un tejido, tal como el corazón, el riñón, el hígado, la médula ósea o la piel, y la enfermedad del injerto contra el hospedador es provocada por el trasplante de células hematopoyéticas (médula ósea, sangre periférica, sangre de cordón umbilical, etc.).
- 45 Como ejemplos de enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario se incluyen enfermedades del tejido conectivo o musculoesqueléticas (artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, lupus eritematoso sistémico, esclerodermia, polimiositis, dermatomiositis, etc.), enfermedades hematológicas (anemia aplásica, púrpura trombocitopénica idiopática, etc.), enfermedades gastrointestinales (enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, etc.), enfermedades neurológicas (esclerosis múltiple, miastenia grave, etc.), enfermedades oftálmicas (uveítis, etc.), enfermedades vasculares (enfermedad de Behcet, granulomatosis de Wegener, etc.), enfermedades epidérmicas (psoriasis, pénfigo, leucodermia, etc.) y enfermedades endocrinas (diabetes mellitus de tipo 1, tiroiditis autoinmunitaria, enfermedad de Grave, enfermedad de Hashimoto, etc.).

- 55 Como ejemplos de enfermedades alérgicas se incluyen dermatitis atópica, asma, anafilaxia, reacción anafilactoide, alergia alimentaria, rinitis, otitis media, reacción a los fármacos, reacción a las picaduras de insectos, reacción a las plantas, alergia al látex, conjuntivitis y urticaria.

Como ejemplos de enfermedades inflamatorias se incluyen nefropatías inflamatorias (glomerulonefritis, nefrosis,

etc.), neumopatías inflamatorias (neumopatía obstructiva crónica, fibrosis quística, neumonía intersticial, etc.), enteropatías inflamatorias (colitis ulcerosa, ileítis, etc.), hepatopatías inflamatorias (hepatitis autoinmunitaria, hepatitis vírica, etc.), cardiopatías inflamatorias (miocarditis, cardiopatía isquémica, aterosclerosis, etc.), enfermedades inflamatorias de la piel (dermatitis de contacto, eccema, etc.), enfermedades oculares inflamatorias (tracoma, endoftalmia, etc.), enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central (meningitis, encefalomiелitis, encefalitis autoinmunitaria, etc.), artropatías inflamatorias (artritis, artrosis, etc.) e inflamaciones sistémicas (septicemia, hemorragia, hipersensibilidad, síntomas de choque atribuidos a la quimioterapia contra el cáncer o similares, etc.).

Como ejemplos de casos en los que la actividad antiplaquetaria o antitrombótica es útil para el tratamiento y/o la prevención se incluyen infarto de miocardio, ictus, cardiopatías isquémicas y trombosis.

Como ejemplos de tratamiento de cánceres se incluyen, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de piel y leucemia.

Otros ejemplos de enfermedades que pueden tratarse con el anticuerpo de la presente invención incluyen: afecciones patológicas en las que están implicados mastocitos y basófilos, tales como leucemia mastocítica, mastocitosis, leucemia basófila y endometriosis; y miopatía con agregados tubulares, síndrome de Stormorken, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante y dermatitis atópica, que se desarrollan o cuyo riesgo de desarrollo aumenta por la hiperfunción genética de los canales CRAC.

Los ejemplos del anticuerpo anti Orai1 como fármaco pueden incluir anticuerpos humanizados preparados a partir del anticuerpo R118 y/o del anticuerpo R198, y sus formas genomodificadas de CDR.

La actividad neutralizante *in vitro* del anticuerpo anti Orai1 contra la actividad biológica de Orai1, puede medirse basándose, por ejemplo, en la actividad inhibidora contra la activación de linfocitos T que expresan Orai1. Por ejemplo, el anticuerpo anti Orai1 se añade a diversas concentraciones a células Jurkat de la línea celular procedente de linfocitos T humanos, y se puede medir la actividad inhibidora contra la liberación de IL-2 de las células Jurkat estimuladas con PMA y A23187. Asimismo, el anticuerpo anti Orai1 se añade a diversas concentraciones a células mononucleares de sangre periférica (CMSP) humana, y se puede medir la actividad inhibidora contra la liberación de IL-2 e interferón γ de CMSP estimuladas con PMA y A23187.

Es un hecho probado experimentalmente y muy reconocido, que las células responsables del desarrollo de la enfermedad del injerto contra el hospedador, son los linfocitos T. Cuando los linfocitos T trasplantados reconocen al receptor como materia extraña, la autopropagación basada en la interleucina 2 (IL-2) producida por ellos mismos, y la liberación de citocinas inflamatorias, tales como el interferón gamma (IFN- γ) por activación, provocan una reacción de inflamación inmunológica sistémica, dando como resultado el desarrollo de la enfermedad del injerto contra el hospedador. Por tanto, la inhibición de la producción de estas citocinas conduce a la prevención o al tratamiento de la enfermedad del injerto contra el hospedador, mientras que la utilidad del anticuerpo anti Orai1 como fármaco terapéutico se puede determinar usando, como indicador, su actividad inhibidora.

Los ejemplos preferidos del anticuerpo según la presente invención, pueden incluir un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, que se une específicamente a la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 2, en el que la concentración a la que la cantidad de IL-2 liberada de células Jurkat tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 50 %, es de 80 ng/ml o inferior. Los ejemplos más preferidos de este anticuerpo pueden incluir el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, en el que la concentración a la que la cantidad de IL-2 liberada de células Jurkat tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 50 %, es de 10 ng/ml o inferior. El anticuerpo de la presente invención también incluye un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, en el que la concentración a la que la cantidad de IL-2 liberada de las células Jurkat tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 80 %, es de 60 000 ng/ml o inferior, y un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, en el que la concentración a la que la cantidad de IL-2 liberada de células Jurkat tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 80 %, es de 200 ng/ml o inferior.

Los ejemplos alternativos preferidos del anticuerpo según la presente invención, pueden incluir un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, que se une específicamente a la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 2, en el que la concentración a la que la cantidad de IL-2 liberada de CMSP humana tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 50 % es de 100 ng/ml o inferior. Los ejemplos más preferidos de este anticuerpo pueden incluir el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, en el que la concentración a la que la cantidad de IL-2 liberada de CMSP humana tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 50 % es de 20 ng/ml o inferior. El anticuerpo de la presente invención también incluye un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, en el que la concentración a la que la cantidad de IL-2 liberada de CMSP humanas tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 80 % es de 17 000 ng/ml o inferior, y un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, en el que la concentración a la que la cantidad de IL-2 liberada de CMSP humana tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 80 % es de 400 ng/ml o inferior.

Otros ejemplos alternativos preferidos del anticuerpo según la presente invención, pueden incluir un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, que se une específicamente a la secuencia de aminoácidos

representada por la SEQ ID NO: 2, en el que la concentración a la que la cantidad de IFN- γ liberada de CMSP humana tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 50 %, es de 800 ng/ml o inferior. Los ejemplos más preferidos de este anticuerpo pueden incluir el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, en el que la concentración a la que la cantidad de IFN- γ liberada de CMSP humana tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 50 %, es de 40 ng/ml o inferior. El anticuerpo de la presente invención también incluye un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, en el que la concentración a la que la cantidad de IFN- γ liberada de CMSP humana tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 80 %, es de 300 000 ng/ml o inferior, y un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, en el que la concentración a la que la cantidad de IFN- γ liberada de CMSP humana tratadas con PMA y A23187 se inhibe en un 80 %, es de 2000 ng/ml o inferior.

El efecto terapéutico o profiláctico *in vivo* del anticuerpo anti Orai1, sobre la enfermedad del injerto contra el hospedador en un animal de laboratorio, puede confirmarse, por ejemplo, midiendo la inhibición de la pérdida de peso en un modelo de ratón de enfermedad del injerto contra el hospedador, trasplantado con CMSP humana. Específicamente, ratones NOG o NSG, que son ratones con inmunodeficiencia combinada grave, se irradian con rayos X de 2,0 Gy. Al día siguiente, 200 μ l de una solución de PBS que contiene de 15 000 000 a 50 000 000 CMSP humana por ml, se trasplantan a cada ratón a través de la vena de la cola. Un grupo de ratones irradiados con rayos X que no ha recibido CMSP humana se usa como grupo sin enfermedad del injerto contra el hospedador, y un grupo trasplantado con CMSP humana al que solo se le ha proporcionado una solución de vehículo para el anticuerpo, se usa como grupo con enfermedad del injerto contra el hospedador. Antes o después del trasplante de CMSP humana, para medir el efecto inhibidor sobre la pérdida de peso en el grupo con enfermedad del injerto contra el hospedador, el anticuerpo anti Orai1 se administra por vía intravenosa en la cola o por vía intraperitoneal.

Además, el efecto terapéutico o profiláctico del anticuerpo anti Orai1 sobre diversas enfermedades, también se puede confirmar mediante los siguientes sistemas de evaluación *in vivo* usando un ratón con inserción (*knock-in*) del gen Orai1 humano.

Para evaluar el efecto sobre la dermatitis, a un ratón se le administra una solución de antígeno proteico por vía intraperitoneal o intravenosa y después de 2 semanas, como refuerzo, se le inyecta el antígeno. Después, para provocar la dermatitis, la misma solución de antígeno proteico que la anterior, se aplica reiteradamente en la oreja o en el lomo de 3 a 6 veces a intervalos de 3 días a 2 semanas. El efecto sobre la dermatitis se evalúa comparando el grosor del pabellón auricular, la puntuación macroscópica de la dermatitis en el lomo, las concentraciones del anticuerpo, las citocinas o los biomarcadores séricos en la sangre o los tejidos, y la actividad de crecimiento, la capacidad de producción de citocinas, o antígenos de superficie de las células obtenidas de la piel, la sangre periférica, el timo, el bazo, los ganglios linfáticos o la médula ósea, entre un grupo con administración de anticuerpos anti Orai1 y un grupo sin administración de anticuerpos anti Orai1.

Para evaluar el efecto sobre el prurito, una crema de antígenos de ácaros, se aplica reiteradamente en el pabellón auricular o en el lomo de 3 a 6 veces a intervalos de 3 días a 2 semanas, o se aplica un hapteno en el pabellón auricular, en la región abdominal o en el lomo, todos los días o una vez a la semana, o se administra una sustancia inductora de prurito por vía intracutánea en el pabellón auricular, por vía subcutánea en el lomo, o por vía intratecal. La acción pruriginosa inducida mediante dicho procedimiento, se cuantifica midiendo el número de episodios pruriginosos usando imanes fijados al dorso de ambas patas del ratón y un aparato de medición de la acción pruriginosa, o examinando los signos patológicos en la piel, sangre periférica o tejidos de la médula espinal. El efecto sobre el prurito se evalúa comparando los resultados obtenidos entre un grupo con administración de anticuerpos anti Orai1 y un grupo sin administración de anticuerpos anti Orai1.

Para evaluar el efecto sobre la psoriasis, se aplica imiquimod en ambos lados o en un lado del pabellón auricular y en el lomo rasurado, o se administra una suspensión de cimosano por vía intraperitoneal, o se administra una citocina, tal como IL-23, por vía intracutánea, en un lado del pabellón auricular del ratón. La dermatitis psoriásica inducida por dicho procedimiento, se cuantifica examinando el peso y el grosor de un lugar con inflamación, la actividad mieloperoxidasa de los neutrófilos infiltrados en el lugar, el análisis de citometría de flujo de las células infiltradas, el análisis de genes, la medición de la concentración de citocinas, etc. El efecto sobre la psoriasis se evalúa comparando los resultados obtenidos entre un grupo con administración de anticuerpos anti Orai1 y un grupo sin administración de anticuerpos anti Orai1.

Para evaluar el efecto sobre la esclerosis múltiple, una solución de glucoproteína oligodendrocítica de mielina o de un antígeno peptídico parcial de la misma, se emulsiona mezclándola con una solución acuosa de un adyuvante completo de Freund en las mismas cantidades. Esta emulsión se administra por vía intracutánea en el costado o en la región abdominal de un ratón. Después, se administra una solución acuosa de toxina tosferínica en la vena de la cola. Después de algunos días, la solución de la toxina tosferínica se administra de nuevo en la vena de la cola para inducir encefalomiелitis experimental. Los síntomas de parálisis que se desarrollan después de 1 a 2 semanas del experimento y que se expanden desde la cola hasta las patas inferiores y las extremidades anteriores, se puntúan mediante observación macroscópica. El efecto sobre la esclerosis múltiple se evalúa comparando los resultados obtenidos entre un grupo con administración de anticuerpos anti Orai1 y un grupo sin administración de anticuerpos anti Orai1.

Para evaluar el efecto sobre la artritis, una emulsión obtenida mezclando colágeno bovino de tipo II y un adyuvante

completo de Freund, se administra por vía intracutánea en la base de la cola de un ratón. Después de 2 a 3 semanas, se lleva a cabo la misma administración que la anterior. Después, el efecto sobre la artritis se evalúa comparando la puntuación de la hinchazón articular, las concentraciones del anticuerpo, las citocinas o los biomarcadores séricos en la sangre o los tejidos, la actividad de crecimiento, la capacidad de producción de citocinas, o antígenos de superficie de las células obtenidas de la piel, la sangre periférica, el timo, el bazo, los ganglios linfáticos o la médula ósea, etc. entre un grupo con administración de anticuerpos anti Orai1 y un grupo sin administración de anticuerpos anti Orai1.

Para evaluar el efecto sobre la colitis, se administra ácido trinitrobencenosulfónico en el tubo intestinal de un ratón en ayunas durante 24 horas, o se permite que un ratón beba, sin reservas durante 4 días a 2 semanas, de un biberón para agua, una solución acuosa que contenga dextrano sulfato de sodio del 1 al 10 % o se trasplantan por vía intraperitoneal a un ratón Rag2-/- linfocitos T CD4+CD25-CD45RBhi recogidos y purificados de los ganglios linfáticos y del bazo de un ratón con inserción del gen Orai1 humano. El efecto sobre la colitis inducida por dicho procedimiento se evalúa comparando el peso corporal durante el período de observación, el grado de engrosamiento del tubo intestinal, el número y tamaño de los pólipos y los signos patológicos examinados mediante autopsia después de finalizar el ensayo, las concentraciones del anticuerpo, las citocinas o los biomarcadores séricos en la sangre o los tejidos, la actividad de crecimiento, la capacidad de producción de citocinas o antígenos de superficie de células obtenidas del tubo intestinal, la sangre periférica, el timo, el bazo, los ganglios linfáticos o la médula ósea, etc. entre un grupo con administración de anticuerpos anti Orai1 y un grupo sin administración de anticuerpos anti Orai1.

Para evaluar el efecto sobre el lupus eritematoso sistémico, se administra albúmina de huevo u otro antígeno no estimulante por vía intraperitoneal o subcutánea un máximo de 15 veces a intervalos de 5 a 10 días para inducir síntomas similares al lupus eritematoso sistémico. El efecto sobre el lupus eritematoso sistémico se evalúa comparando las concentraciones del anticuerpo, las citocinas o los biomarcadores séricos en la sangre o los tejidos recogidos a lo largo del tiempo durante el período de observación, el título de anticuerpos o la concentración de biomarcadores en la orina, los síntomas inducidos en un ratón no tratado por el trasplante de células preparadas a partir de un órgano, tal como el bazo o los ganglios linfáticos, extraídas después de finalizar el ensayo, etc., entre un grupo con administración de anticuerpos anti Orai1 y un grupo sin administración de anticuerpos anti Orai1.

Para evaluar el efecto sobre la hepatitis, se administra D-galactosamina por vía intraperitoneal, sola o en combinación con lipopolisacárido, a un ratón, o se administra concanavalina A por vía intravenosa sola en la cola. El efecto sobre la hepatitis inducida por dicho procedimiento se evalúa comparando las concentraciones de GOT (glutamato oxalacetato transaminasa) y GPT (glutamato piruvato transaminasa) en sangre extraída 1 hora a 1 semana después de la administración de la sustancia causante, y las afecciones histopatológicas de las lesiones hepáticas entre un grupo con administración de anticuerpos anti Orai1 y un grupo sin administración de anticuerpos anti Orai1.

Para evaluar el efecto sobre la tasa de supervivencia del injerto en el trasplante de células de médula ósea o el efecto profiláctico sobre la enfermedad del injerto contra el hospedador, células de la médula ósea extraídas del fémur o de la tibia de un ratón con inserción del gen Orai1 humano, se trasplantan a un ratón receptor irradiado con rayos X, ya sea solas o en combinación con esplenocitos extraídos del bazo del ratón con inserción del gen Orai1 humano. El efecto sobre la tasa de supervivencia del injerto o el efecto profiláctico, se evalúa comparando el cambio de peso corporal o las tasas de supervivencia durante 4 a 16 semanas, las concentraciones del anticuerpo, las citocinas o los biomarcadores séricos en la sangre o los tejidos al finalizar el ensayo, y los antígenos de superficie, la actividad de crecimiento o la capacidad de producción de citocinas de células obtenidas del tubo intestinal, la sangre periférica, el timo, el bazo, los ganglios linfáticos o la médula ósea, entre un grupo con administración de anticuerpos anti Orai1 y un grupo sin administración de anticuerpos anti Orai1.

Para evaluar el efecto sobre la tasa de supervivencia del injerto de un órgano trasplantado, la piel recogida de la base de la cola de un ratón hospedador se fija al panículo carnoso expuesto cortando la piel del lomo de un ratón con inserción del gen Orai1 humano. El tamaño del trasplante y su estado de injertación se puntúan durante 4 a 16 semanas después del trasplante. El efecto sobre la tasa de supervivencia del injerto se evalúa comparando los resultados obtenidos entre un grupo con administración de anticuerpos anti Orai1 y un grupo sin administración de anticuerpos anti Orai1.

El anticuerpo obtenido de esta manera, que neutraliza la actividad biológica de Orai1, es útil como fármaco, en particular, como anticuerpo para la prevención o el tratamiento de rechazos de trasplantes, enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario, enfermedades alérgicas, enfermedades inflamatorias, trombosis o cánceres, etc.

Como ejemplo, el anticuerpo anti Orai1 puede administrarse solo o en combinación con al menos un agente terapéutico adicional para el tratamiento o la prevención de rechazos de trasplantes, enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario, enfermedades alérgicas, enfermedades inflamatorias, trombosis o cánceres. Como ejemplos del agente terapéutico adicional que se puede administrar en combinación con el anticuerpo anti Orai1 pueden incluirse, aunque sin limitación, antifolatos, inhibidores de calcineurina, esteroides corticosuprarrenales, globulina antitimocítica, antimetabolitos de ácidos nucleicos, inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos, productos

biológicos que se dirigen a antígenos de la superficie celular y productos biológicos que se dirigen a citocinas o a receptores de citocinas.

Como ejemplos específicos de estos agentes terapéuticos pueden incluirse: metotrexato como antifolato; ciclosporina y tacrolimus como inhibidores de calcineurina; metilprednisolona como esteroide corticosuprarrenal; ciclofosfamida como inhibidor de la síntesis de ácidos nucleicos; Zetbulin, linfoglobulina y timoglobulina como globulinas antitímocíticas; micofenolato de mofetilo como antimetabolito de ácidos nucleicos; alemtuzumab y rituximab como productos biológicos que se dirigen a antígenos de la superficie celular; e infliximab, etanercept y rituximab, como productos biológicos que se dirigen a citocinas o a sus receptores.

Dependiendo de las condiciones de los rechazos de trasplantes, de las enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario, de las enfermedades alérgicas, de las enfermedades inflamatorias, de la trombosis, de los cánceres o del objetivo del tratamiento y/o de la prevención de los mismos, pueden administrarse 2, 3 o más tipos de agentes terapéuticos adicionales, y estos agentes terapéuticos adicionales pueden incluirse en la misma preparación y administrarse al mismo tiempo. El agente terapéutico adicional y el anticuerpo anti Orai1 pueden incluirse en la misma preparación y administrarse al mismo tiempo. Como alternativa, el anticuerpo anti Orai1 y el agente terapéutico adicional pueden incluirse en preparaciones distintas y administrarse al mismo tiempo. Además, el agente terapéutico adicional y el anticuerpo anti Orai1 pueden administrarse por separado de manera espaciada. Específicamente, el agente terapéutico que, como principio activo, contiene el anticuerpo anti Orai1 o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo, puede administrarse después de la administración del agente terapéutico adicional, o el agente terapéutico adicional puede administrarse después de la administración del agente terapéutico que, como principio activo, contiene el anticuerpo anti Orai1 o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo. En el caso de administración en terapia génica, un gen de un agente terapéutico proteico y el gen del anticuerpo anti Orai1, pueden insertarse corriente abajo de regiones promotoras distintas o en la misma región promotora e introducirse en vectores distintos o en el mismo vector.

El anticuerpo anti Orai1 o el fragmento del mismo, se puede conjugar con un agente terapéutico para producir un conjugado de fármaco dirigido descrito en M.C. Garnet, "Targeted drug conjugates: principles and progress", *Advanced Drug Delivery Reviews*, (2001) 53, 171-216. Para este fin, la molécula de anticuerpo, así como cualquier fragmento de anticuerpo, es aplicable siempre que el fragmento de anticuerpo no pierda por completo la propiedad de reconocer linfocitos T. Como ejemplos del fragmento se pueden incluir los fragmentos Fab, F(ab')₂ y Fv. Como tal, en la presente invención puede usarse el anticuerpo y el fragmento. El patrón de conjugación entre el anticuerpo anti Orai1 o el fragmento del anticuerpo y el agente terapéutico, puede ser cualquiera de los diversos patrones descritos en M.C. Garnet, "Targeted drug conjugates: principles and progress", *Advanced Drug Delivery Reviews*, (2001) 53, 171-216, G.T. Hermanson, "Bioconjugate Techniques", Academic Press, California (1996), Putnam y J. Kopecek, "Polymer Conjugates with Anticancer Activity", *Advances in Polymer Science* (1995) 122, 55-123, etc. Como ejemplos específicos de los mismos se pueden incluir un patrón en el que el anticuerpo anti Orai1 y el agente terapéutico se conjugan directamente de manera química o mediante un espaciador, tal como un oligopéptido, y un patrón en el que el anticuerpo anti Orai1 y el agente terapéutico se conjugan a través de un transportador de fármacos apropiado. Como ejemplos del transportador de fármacos se pueden incluir liposomas y polímeros solubles en agua. Como ejemplos de dicho patrón mediado por estos transportadores de fármacos, se pueden incluir más específicamente un patrón en el que el anticuerpo y el agente terapéutico estén incluidos en un liposoma mediante la conjugación del liposoma y el anticuerpo, y un patrón en el que el agente terapéutico se conjuga con un polímero soluble en agua (un compuesto con un peso molecular del orden de 1 000 a 100 000) directamente de una manera química o mediante un espaciador, tal como un oligopéptido, al mismo tiempo que el anticuerpo se conjuga con el polímero soluble en agua. La conjugación del anticuerpo (o del fragmento) con el agente terapéutico o el transportador de fármacos (por ejemplo, liposoma y polímero soluble en agua) se puede llevar a cabo mediante un procedimiento bien conocido por los expertos en la materia, por ejemplo, un procedimiento descrito en G.T. Hermanson, "Bioconjugate Techniques", Academic Press, California (1996), y en Putnam y J. Kopecek, "Polymer Conjugates with Anticancer Activity", *Advances in Polymer Science* (1995) 122, 55-123. La inclusión del agente terapéutico en el liposoma se puede llevar a cabo mediante un procedimiento bien conocido por los expertos en la materia, por ejemplo, un procedimiento descrito en D.D. Lasic, "Liposomes: From Physics to Applications", Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam (1993), etc. La conjugación del agente terapéutico con el polímero soluble en agua se puede llevar a cabo mediante un procedimiento bien conocido por los expertos en la materia, por ejemplo, un procedimiento descrito en D. Putnam y J. Kopecek, "Polymer Conjugates with Anticancer Activity", *Advances in Polymer Science* (1995) 122, 55-123. El conjugado del anticuerpo (o el fragmento) y un agente terapéutico proteico (o el fragmento) puede prepararse mediante cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente, así como mediante procedimientos de genomanipulación bien conocidos por los expertos en la materia.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéutica y/o profilácticamente eficaz del anticuerpo anti Orai1 y un diluyente, vehículo, solubilizante, emulsionante, conservante y/o aditivo farmacéuticamente aceptable.

La invención también proporciona una composición farmacéutica que contiene una cantidad terapéutica y/o profilácticamente eficaz del anticuerpo anti Orai1, una cantidad terapéutica y/o profilácticamente eficaz de al menos un agente terapéutico y un diluyente, vehículo, solubilizante, emulsionante, conservante y/o aditivo farmacéuticamente aceptable. Como ejemplos del agente terapéutico pueden incluirse, pero sin limitación, los

antifolatos, los inhibidores de calcineurina, los esteroides corticosuprarrenales, las globulinas antitímocíticas, los antimetabolitos de ácidos nucleicos, los inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos, los productos biológicos que se dirigen a antígenos de la superficie celular y los productos biológicos que se dirigen a citocinas o a receptores de citocinas, anteriormente mencionados.

- 5 Se prefiere que la sustancia farmacéuticamente aceptable usada en la composición farmacéutica de la presente invención no sea tóxica para el receptor de la composición farmacéutica, preferentemente en cuanto a una dosis o a una concentración administrada.

La composición farmacéutica de la presente invención puede contener materiales farmacéuticos para cambiar o mantener el pH, la presión osmótica, la viscosidad, la transparencia, el color, la isotonicidad, la esterilidad, la estabilidad, la solubilidad, la liberación sostenida, la capacidad de absorción o la permeabilidad. Como ejemplos de materiales farmacéuticos pueden incluirse, aunque sin limitación, las siguientes: aminoácidos tales como glicina, alanina, glutamina, asparagina, arginina y lisina; agentes antimicrobianos; antioxidantes tales como ácido ascórbico, sulfato de sodio y bisulfito de sodio; tampones, tales como tampones de fosfato, citrato o borato, bicarbonato de sodio y soluciones de Tris-HCl; cargas, tales como manitol y glicina; agentes quelantes, tales como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA); agentes formadores de complejos, tales como cafeína, polivinilpirrolidina, β -ciclodextrina e hidroxipropil- β -ciclodextrina; agentes de relleno, tales como glucosa, manosa y dextrina; otros hidratos de carbono, tales como monosacáridos y disacáridos; agentes colorantes; correctores; diluyentes; emulsionantes; polímeros hidrófilos, tales como polivinilpirrolidina; polipéptidos de bajo peso molecular; contraiones formadores de sal; antisépticos, tales como cloruro de benzalconio, ácido benzoico, ácido salicílico, timerosal, alcohol fenilico, metilparabeno, propilparabeno, clorhexidina, ácido sórbico y peróxido de hidrógeno; disolventes, tales como glicerina, propilenglicol y polietilenglicol; alcoholes de azúcares, tales como manitol y sorbitol; agentes de suspensión; tensioactivos, tales como éster de sorbitano, polisorbato, tales como polisorbato 20 y polisorbato 80, tritón, trometamina, lecitina y colesterol; potenciadores de la estabilidad, tales como sacarosa y sorbitol; potenciadores de la elasticidad, tales como cloruro de sodio, cloruro de potasio, manitol y sorbitol; agentes de transporte; excipientes; y/o aditivos farmacéuticos. La cantidad de estos materiales farmacéuticos añadidos es preferentemente de 0,01 a 100 veces, en particular, de 0,1 a 10 veces el peso del anticuerpo anti Orai1. Los expertos en la técnica pueden determinar apropiadamente una receta adecuada para la composición farmacéutica en una preparación según una enfermedad aplicable, una vía de administración aplicable, etc.

El excipiente o el vehículo de la composición farmacéutica puede ser líquido o sólido. Los excipientes o vehículos apropiados pueden ser otros materiales habitualmente usados en agua para inyectables, solución salina fisiológica, líquidos cefalorraquídeos artificiales y administración parenteral. Como vehículo se puede usar solución salina fisiológica neutra o solución salina fisiológica que contenga seroalbúmina. La composición farmacéutica puede contener un tampón de Tris con un pH de 7,0 a 8,5, un tampón de acetato con un pH de 4,0 a 5,5 o un tampón de citrato con un pH de 3,0 a 6,2. Estos tampones también pueden contener sorbitol u otros compuestos. Como ejemplos de la composición farmacéutica de la presente invención se pueden incluir una composición farmacéutica que comprenda el anticuerpo anti Orai1 y una composición farmacéutica que comprenda el anticuerpo anti Orai1 y al menos un agente terapéutico. La composición farmacéutica de la presente invención se prepara en forma de un producto liofilizado o de un líquido como un fármaco que tiene una receta seleccionada y una pureza necesaria. La composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti Orai1, o la composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti Orai1 y al menos un agente terapéutico, también se puede formar como un producto liofilizado usando un excipiente apropiado, tal como sacarosa.

La composición farmacéutica de la presente invención puede prepararse para administración parenteral o puede prepararse para absorción en el tubo digestivo por vía oral. La receta y la concentración de la preparación se pueden determinar según el procedimiento de administración. Cuanto mayor sea la afinidad del anticuerpo anti Orai1 contenido en la composición farmacéutica de la presente invención por Orai1, es decir, una menor constante de disociación (valor K_d) para Orai1, menor será la dosis del anticuerpo anti Orai1 que pueda mostrar eficacia en un ser humano. Por lo tanto, la dosis de la composición farmacéutica de la presente invención para un ser humano también se puede determinar en función de este resultado. La dosis para la administración del anticuerpo anti Orai1 de tipo humano a un ser humano, es de aproximadamente 0,1 a 100 mg/kg, que se puede administrar una vez cada 1 a 180 días.

Como ejemplos de la forma de la composición farmacéutica de la presente invención pueden incluirse inyecciones con goteo intravenoso, supositorios, formulaciones transnasales, formulaciones sublinguales y formulaciones de absorción transdérmica.

Aunque la mayoría de las preparaciones de anticuerpos aprobadas se administran por vía intravenosa, la administración subcutánea es a menudo más preferida en la práctica médica. En tal caso, el volumen está limitado a una cantidad de 1,0 a 1,5 ml. Por lo tanto, se requiere una solución de anticuerpo que tenga una alta concentración dependiendo de la dosis. Sin embargo, dado que una concentración más alta aumenta la viscosidad de la solución farmacológica, puede darse el caso de que, debido a su alta viscosidad, la solución farmacológica no se pueda inyectar usando una aguja para inyección que tenga un grosor de uso habitual. Resumiendo, en el caso de seleccionar una inyección como la forma de la composición farmacéutica, la baja viscosidad es una propiedad importante a la que se debe dar la máxima prioridad. Por tanto, se puede seleccionar un anticuerpo adecuado con la

viscosidad como indicador.

Ejemplos

En lo sucesivo en el presente documento, la presente invención se describirá específicamente con referencia a los Ejemplos. Sin embargo, no se pretende que la presente invención se limite a ellos. Cada uno de los procedimientos relacionados con la manipulación génica en los siguientes ejemplos, se realizaron según los procedimientos descritos en "Molecular Cloning" (Sambrook, J., Fritsch, E.F. y Maniatis, T., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989), o usando reactivos o kits disponibles en el comercio según los manuales de instrucciones de los productos comerciales, a menos que se especifique otra cosa.

[Ejemplo 1] Preparación del anticuerpo anti Orai1 humano de rata

1)-1 Inmunización

1)-1-1 Construcción del vector de expresión de Orai1 humano (pcDNA3.1-hOrai1)

Se adquirió el clon de ORF (*open reading frame*, marco abierto de lectura) definitivo (Clon N.º IOH40869, Life Technologies Corp.) clonado en pDONR221 (Life Technologies Corp.) y se usó como la secuencia génica de Orai1 humano. En el Listado de Secuencias, la secuencia génica se muestra en la SEQ ID NO: 1 y la secuencia de aminoácidos se muestra en la SEQ ID NO: 2. Asimismo, pcDNA3.1(+) se modificó en un vector de destino con el sistema de conversión de vectores Gateway (Life Technologies Corp.) para preparar pcDNA3.1-DEST. La secuencia génica se recombinó con pcDNA3.1-DEST dentro de la secuencia att usando la mezcla de enzimas de Gateway LR Clonase (Life Technologies Corp.) para preparar un vector de expresión de Orai1 humano, pcDNA3.1-hOrai1. En la preparación a gran escala del vector de expresión de Orai1 humano, se usó el kit de EndoFree Plasmid Giga (Qiagen NV).

1)-1-2 Inmunización de ratas

En la inmunización se usaron ratas hembra WKY/lzm (Japan SLC, Inc.). En primer lugar, las patas inferiores de cada rata se pretrataron con hialuronidasa (Sigma-Aldrich Corp.), y después, el vector pcDNA3.1-hOrai1 se inyectó por vía intramuscular en estos lugares. Posteriormente, se llevó a cabo electroporación *in vivo* en los lugares usando ECM830 (BTX) y un electrodo de dos agujas. Después de repetir una electroporación similar *in vivo* una vez cada dos semanas, se extrajeron los ganglios linfáticos de la rata y se usaron en la preparación de hibridomas.

1)-2 Preparación de hibridomas

Las células de los ganglios linfáticos se fusionaron eléctricamente con células de mieloma SP2/0-ag14 de ratón, usando el sistema de producción de hibridomas HybriMune (Cyto Pulse Sciences, Inc.). Las células fusionadas se diluyeron con medio de selección D de ClonaCell-HY (StemCell Technologies Inc.) y se cultivaron. Para preparar hibridomas monoclonales, las colonias de hibridomas que aparecieron, se recuperaron. Cada colonia de hibridoma recuperada se cultivó y el sobrenadante del cultivo de hibridoma obtenido, se usó para explorar un hibridoma que produjera el anticuerpo anti Orai1 humano.

1)-3 Exploración primaria mediante ensayo ELISA basado en células (Cell-ELISA)

1)-3-1 Preparación de células que expresan el gen antigénico para el ensayo ELISA basado en células

En un medio DMEM que contenía FBS al 10 %, se prepararon células HEK293 a $7,5 \times 10^5$ células/ml. Las células se transfectaron con pcDNA3.1-hOrai1 o pcDNA3.1-DEST como control según los procedimientos de transfección usando Lipofectamine 2000, se distribuyeron a 50 µl/pocillo en una placa de 96 pocillos (Corning Inc.) y se cultivaron a 37°C durante dos noches con CO₂ al 5 % en un medio DMEM que contenía FBS al 10 %. Las células transfectadas obtenidas se usaron en el estado fijado en el ensayo ELISA basado en células.

1)-3-2 Ensayo ELISA basado en células

Después de retirar el sobrenadante del cultivo de las células HEK293 transfectadas con el vector de expresión preparado en el Ejemplo 1)-1-1, cada sobrenadante del cultivo de hibridoma se añadió a las células HEK293 transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1 o pcDNA3.1-DEST, y la placa se incubó durante 1 hora a 4 °C. Las células que estaban en los pocillos, se lavaron una vez con PBS que contenía FBS al 5 %. Después, se añadió a los mismos, anticuerpo anti IgG de rata conjugado con peroxidasa producido en conejo (Sigma-Aldrich Corp.) diluido 500 veces con PBS que contenía FBS al 5 % y la placa se dejó en reposo durante 1 hora a 4 °C. Las células que estaban en los pocillos, se lavaron 6 veces con PBS que contenía FBS al 5 %. Después, se añadió a los mismos, una solución cromogénica de OPD (solución OPD (diclorhidrato de o-fenilendiamina (Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.) y H₂O₂ disuelto a concentraciones de 0,4 mg/ml y 0,6 % (v/v), respectivamente, en citrato trisódico 0,05 M e hidrogenofosfato disódico dodecahidratado 0,1 M, pH 4,5)) a 25 µl/pocillo. La reacción de color se realizó con agitación ocasional y se detuvo mediante la adición de HCl 1 M a 25 µl/pocillo. Después, se midió la absorbancia a 490 nm usando un lector de placas (ENVISION; PerkinElmer, Inc.). Para seleccionar un hibridoma productor de un anticuerpo que se una específicamente a Orai1 humano expresado en la superficie de la membrana celular, los

hibridomas que produjeron un sobrenadante de cultivo que presentaba una mayor absorbancia para las células HEK293 transfectadas con el vector de expresión pcDNA3.1-hOrai1 en comparación con las células HEK293 de control transfectadas con pcDNA3.1-DEST, se seleccionaron como hibridomas positivos para anticuerpos anti Orai1 humanos.

5 1)-4 Exploración secundaria por citometría de flujo

1)-4-1 Preparación de células que expresan el gen antigénico para el análisis por citometría de flujo

Células HEK293T se inocularon a 5×10^4 células/cm² sobre un matraz de 225 cm² y se cultivaron durante la noche a 37°C con CO₂ al 5 % en un medio DMEM que contenía FBS al 10 %. Al día siguiente, las células HEK293T se transfectaron con pcDNA3.1-hOrai1 o pcDNA3.1-DEST como control, usando Lipofectamine 2000 y también se cultivaron a 37°C durante dos noches con CO₂ al 5 %. Al día siguiente, las células HEK293T transfectadas con el vector de expresión se trataron con TrypLE Express (Life Technologies Corp.), se lavaron con DMEM que contenía FBS al 10 % y después se suspendieron en PBS que contenía FBS al 5 %. La suspensión celular obtenida se usó en el análisis de citometría de flujo.

1)-4-2 Análisis de citometría de flujo

La especificidad de unión del anticuerpo Orai1 humano producido por cada hibridoma que se confirmó como positiva mediante ensayo ELISA basado en células del Ejemplo 1)-3, también se confirmó mediante citometría de flujo. Cada suspensión de células HEK293T preparada en el Ejemplo 1)-4-1 se centrifugó para retirar el sobrenadante. Después, las células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-DEST o las células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1, se suspendieron mediante la adición del sobrenadante del cultivo de hibridoma y se incubaron durante 1 hora a 4 °C. Las células se lavaron una vez con PBS que contenía FBS al 5 %, después, se suspendieron mediante la adición de anti IgG de rata conjugado con FITC (Sigma-Aldrich Corp.) diluido 500 veces con PBS que contenía FBS al 5 % y se dejaron en reposo durante 1 hora a 4 °C. Las células se lavaron 3 veces con PBS que contenía FBS al 5 % y después se resuspendieron en PBS que contenía FBS al 5 % y 7-aminoactinomicina D 2 µg/ml (Molecular Probes, Inc.), seguido de detección usando un citómetro de flujo (FC500; Beckman Coulter Inc.). Los datos se analizaron usando FlowJo (Tree Star Inc.). Después de excluir por selección las células muertas positivas a 7-aminoactinomicina D, la intensidad de fluorescencia FITC (siglas del inglés *Fluorescein IsoThioCyanate*, isotiocianato de fluoresceína) de las células vivas, se representó gráficamente en forma de un histograma. Los hibridomas que produjeron una muestra que presentaba un cambio a una intensidad de fluorescencia más fuerte en el histograma de las células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1 en comparación con el histograma de intensidad de fluorescencia de las células HEK293T de control transfectadas con pcDNA3.1-DEST, se obtuvieron como hibridomas productores del anticuerpo anti Orai1 humano. Como resultado, se obtuvieron 225 hibridomas que presentaban un cambio significativo.

1)-5 Isotipificación de los anticuerpos

Los anticuerpos R118 y R198, que se sugirió que se unían fuertemente a Orai1 humano, se seleccionaron de entre los anticuerpos de rata anti Orai1 humanos producidos por los hibridomas obtenidos en el ejemplo 1)-4 y se isotipificaron. Sus isotipos se determinaron usando un kit de ensayo de isotipificación de anticuerpos monoclonales de rata (AbD Serotec). Como resultado, se descubrió que los isotipos de los anticuerpos monoclonales de rata anti Orai1 humanos, R118 y R198, eran IgG2a y cadenas k.

1)-6 Preparación de anticuerpos de rata anti Orai1 humanos

Cada uno de los anticuerpos monoclonales de rata anti Orai1 humanos, se purificó del sobrenadante del cultivo de hibridoma.

En primer lugar, el hibridoma que producía el anticuerpo R118 o R198, se cultivó en una cantidad suficiente con medio de selección E de ClonaCell-HY. Después, el medio se reemplazó por Hybridoma SFM (Life Technologies Corp.) complementado con Ultra Low IgG FBS al 20 % (Life Technologies Corp.), seguido de cultivo durante 5 días. Este sobrenadante de cultivo se recogió y se esterilizó a través de un filtro de 0,45 µm.

El anticuerpo se purificó del sobrenadante de hibridoma mediante cromatografía de afinidad con proteína G (a una temperatura de 4 a 6 °C) en una etapa. La etapa de reemplazo del tampón después de la purificación mediante cromatografía de afinidad con proteína G, se llevó a cabo a una temperatura de 4 a 6 °C. En primer lugar, el sobrenadante de cultivo de hibridoma se aplicó a una columna rellena con proteína G (GE Healthcare BioSciences Corp.) equilibrada con PBS. Después de introducir todo el sobrenadante de cultivo en la columna, ésta se lavó con PBS de 2 o más veces el volumen de la columna. A continuación, las fracciones que contenían el anticuerpo se recogieron mediante elución con una solución acuosa de clorhidrato de glicina 0,1 M (pH 2,7). Las fracciones recogidas se prepararon a un pH de 7,0 a 7,5 mediante la adición de Tris-HCl 1 M (pH 9,0) y después el tampón se reemplazó con PBS usando un dispositivo de filtro centrífugo de UF VIVASPIN 20 (límite de peso molecular: UF30K, Sartorius Japan K.K., a una temperatura de 4 a 6 °C) al tiempo que se concentra en una concentración de anticuerpo de 0,2 mg/ml o superior. Finalmente, la solución de anticuerpo se filtró a través de un filtro Minisart-Plus (Sartorius Japan KK) y se usó como muestra purificada.

[Ejemplo 2] Evaluación *in vitro* del anticuerpo de rata anti Orai1 humano

2)-1 Evaluación de la capacidad del anticuerpo de rata anti Orai1 humano para unirse mediante citometría de flujo

Para evaluar la especificidad de unión de Orai1, la suspensión de células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-DEST o la suspensión de células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1 preparada mediante el procedimiento mostrado en el ejemplo 1)-4-1, se centrifugó para retirar el sobrenadante. Después, las células HEK293T se suspendieron mediante la adición del anticuerpo monoclonal de rata anti Orai1 humano, R118 o R198, preparado en el ejemplo 1)-6 o de un anticuerpo de control de IgG de rata (Beckman Coulter Inc.), y se incubaron durante 30 minutos a 4 °C. Las células se lavaron dos veces con PBS que contenía FBS al 5 %, después se suspendieron mediante la adición de anti IgG de rata conjugado con FITC diluido 320 veces con PBS que contenía FBS al 5 %, y se incubó durante 30 minutos a 4 °C. Las células se lavaron dos veces con PBS que contenía FBS al 5% y después se resuspendieron en PBS que contenía FBS al 5% y yoduro de propidio 1 µg/ml (Life Technologies Corp.), seguido de detección usando un citómetro de flujo (FC500). Los datos se analizaron usando Flowjo. Después de excluir por selección las células muertas positivas a yoduro de propidio, la intensidad de fluorescencia FITC de las células vivas, se representó gráficamente en forma de histograma, para calcular la intensidad de fluorescencia media (IFM). Los anticuerpos R118 y R198 no se unieron a las células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-DEST y, como se muestra en la figura 1, cada uno de ellos se unía solo a las células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1 de una manera dependiente de la concentración, lo que demuestra que cada uno de estos anticuerpos se une específicamente a Orai1 humano. Por otro lado, dicha unión no se observó en el anticuerpo de control de IgG de rata.

2)-2 Efecto inhibitorio de la activación de linfocitos T del anticuerpo de rata anti Orai1 humano

Se prepararon células Jurkat de la línea de linfocitos T humanos a una concentración de $1,5 \times 10^6$ células/ml en RPMI1640 (Life Technologies Corp.) que contenía FBS al 10 %, penicilina 100 U/ml y estreptomicina 100 µg/ml (Life Technologies Corp.), se inocularon a 80 µl/pocillo en una placa de cultivo celular de 96 pocillos y se pretrataron con el anticuerpo monoclonal de rata anti Orai1 humano, R118 o R198, o con un anticuerpo de control de IgG de rata añadido a 10 µl/pocillo a 37 °C durante 60 minutos con CO₂ al 5 %. Después, se añadió PMA 100 ng/ml (Sigma-Aldrich Corp.) y A23187 1 µg/ml (Sigma-Aldrich Corp.) a 10 µl/pocillo (concentración final: PMA 10 ng/ml y A23187 100 ng/ml) y se agitó bien, seguido de cultivo durante aproximadamente 16 horas a 37 °C con CO₂ al 5 %. La placa se agitó bien y después se centrifugó a 600 g durante 3 minutos. La concentración de interleucina-2 (IL-2) contenida en el sobrenadante se midió mediante ensayo ELISA (R&D systems, Inc.). En la Figura 2 se muestra que cada uno de los anticuerpos monoclonales de rata anti Orai1 humano, inhibe, de una manera dependiente de la concentración, la liberación de IL-2 de células Jurkat tratadas con PMA y A23187. Cada uno de los anticuerpos R118 y R198 inhibió la liberación de IL-2 de las células Jurkat de una manera dependiente de la concentración. Por otro lado, dicha inhibición no se observó en el anticuerpo de control de IgG de rata.

[Ejemplo 3] Determinación de las secuencias de nucleótidos de los ADNc que codifican las regiones variables del anticuerpo de rata anti Orai1 humano

3)-1 Síntesis de ADNc

Un lisado celular (Tris-HCl 50 mM (pH 7,5), LiCl 250 mM, EDTA 5 mM (pH 8), dodecilsulfato de litio (LiDS) al 0,5 %, ditiotretol (DTT) 2,5 mM) del hibridoma que producía cada uno de los anticuerpos R118 o R198, se mezcló con perlas magnéticas (Kit Dynabeads mRNA DIRECT, Invitrogen Corp.) unidas con oligo dT25 de modo que el ARNm se uniera a las perlas magnéticas. A continuación, cada una de las perlas magnéticas se lavó una vez con solución de lavado A para ARNm (Tris-HCl 10 mM (pH 7,5), LiCl 0,15 M, EDTA 1 mM, LiDS al 0,1 %, Triton X-100 al 0,1 %) y una solución de síntesis de ADNc (Tris-HCl 50 mM (pH 8,3), KCl 75 mM, MgCl₂ 3 mM, DTT 5 mM, DNTP 0,5 mM, Triton X-100 al 0,2 %, 1,2 unidades de inhibidor de RNasa (Life Technologies Corp.)), seguido de síntesis de ADNc usando una solución de síntesis de ADNc complementada con 12 unidades de transcriptasa inversa SuperScript III (Life Technologies Corp.). Posteriormente, cada una de las perlas magnéticas se lavó con una solución de reacción de cola 3' (fosfato de potasio 50 mM, MgCl 4 mM₂, dGTP 0,5 mM, Triton X-100 al 0,2 %, 1,2 unidades de inhibidor de RNasa (Life Technologies Corp.)), seguido de una reacción de cola 3' usando una solución de reacción complementada con 48 unidades de Transferasa Terminal, recombinante (F. Hoffmann-La Roche, Ltd.).

3)-2 Amplificación y secuenciación de fragmentos génicos de la región variable de cadena pesada y ligera de inmunoglobulina de rata

Las perlas magnéticas se lavaron con una solución de TE (Tris-HCl 10 mM (pH 7,5), EDTA 1 mM, Triton X-100 al 0,1%), y después los genes de cadena pesada y ligera de inmunoglobulina de rata se amplificaron mediante PCR 5'-RACE (PCR con *Rapid Amplification of cDNA ends*, amplificación rápida de los extremos de ADNc en 5'). Específicamente, las perlas magnéticas se transfirieron a una solución de reacción de PCR (cebador 0,2 µM, dNTP 0,2 mM, 0,25 unidades de ADN polimerasa PrimeSTAR HS (Takara Bio Inc.)) y se sometieron a 35 ciclos de reacción, cada uno de los cuales consistía en una temperatura de 94 °C durante 30 segundos y una temperatura de 68 °C durante 90 segundos. Los conjuntos de cebadores usados fueron los siguientes:

Conjunto de cebadores de PCR (para la cadena pesada)

5'-GCTAGCGCTACCGGACTCAGATCCCCCCCCCCCCCDN-3' (Nhe-polyC-S) (SEQ ID NO: 3)
5'-TCACTGAGCTGGTGAGAGTGTAGAGCCC-3' (rlgy-AS1) (SEQ ID NO: 4)
5'-TCACCGAGCTGCTGAGGGTGTAGAGCCC-3' (rlgy-AS2) (SEQ ID NO: 5)

Conjunto de cebadores de PCR (para la cadena ligera)

5 5'-GCTAGCGCTACCGGACTCAGATCCCCCCCCCCCCCDN-3' (Nhe-polyC-S) (SEQ ID NO: 6) (el mismo
que para la cadena pesada)
5'-TCAGTAACACTGTCCAGGACACCATCTC-3' (rlgk-AS) (SEQ ID NO: 7)

Los fragmentos amplificados mediante la reacción de PCR, se secuenciaron para analizar sus secuencias de nucleótidos. Como cebador de secuenciación para la cadena pesada, se usó un oligonucleótido que tenía una secuencia de nucleótidos de 5'-CTGGCTCAGGGAATAGCC-3' (rlgV-seq) (SEQ ID NO: 8) y como cebador de secuenciación para la cadena ligera se usó un oligonucleótido que tenía una secuencia de nucleótidos de 5'-TCCAGTTGCTAACTGTTCC-3' (rlak-seq) (SEQ ID NO: 9).

El análisis de secuenciación se realizó usando un equipo de análisis de secuencia génica ("analizador de ADN ABI PRISM 3700; Applied Biosystems, Inc." o "analizador 3730xl de Applied Biosystems; Applied Biosystems, Inc."). En la reacción de secuenciación se usó el sistema de secuenciación Dye Terminator Cycle con ADN polimerasa AmpliTag (Life Technologies Corp.) y GeneAmp 9700 (Applied Biosystems, Inc.).

20 Las secuencias de nucleótidos determinadas que codifican las regiones variables de cadena ligera y pesada de R118 y R198 se muestran en las SEQ ID NO: 10 (cadena ligera de R118) y 12 (cadena pesada de R118) y en las SEQ ID NO: 14 (cadena ligera de R198) y 16 (cadena pesada de R198), respectivamente, del Listado de Secuencias. Las secuencias de aminoácidos de las regiones variables se muestran en las SEQ ID NO: 11 (cadena ligera de R118) y 13 (cadena pesada de R118) y en las SEQ ID NO: 15 (cadena ligera de R198) y 17 (cadena pesada de R198), respectivamente, del Listado de Secuencias. Las SEQ ID NO: 10 y 11 se muestran en la Figura 14. Las SEQ ID NO: 12 y 13 se muestran en la Figura 15. Las SEQ ID NO: 14 y 15 se muestran en la Figura 16. Las SEQ ID NO: 16 y 17 se muestran en la Figura 17.

25 **[Ejemplo 4] Preparación del anticuerpo humano quimerizado anti Orai1 humano**

4)-1 Construcción del vector de expresión de cadena ligera quimerizada y humanizada, pCMA-LK

30 Para preparar pcDNA3.3/K, un fragmento de aproximadamente 5,4 kb, obtenido mediante la digestión de un plásmido pcDNA3.3-TOPO/lacZ (Life Technologies Corp.) con las enzimas de restricción XbaI y PmeI, se ligó con un fragmento de ADN (mostrado en la SEQ ID NO: 18 del Listado de Secuencias) que comprendía una secuencia que codificaba una señal de secreción de la cadena α humana y una región constante de la cadena κ humana, usando el kit de clonación por PCR In-Fusion Advantage (Clontech Laboratories, Inc.).

35 Como molde en la PCR, se usó pcDNA3.3/1K, usando el conjunto de cebadores proporcionado más adelante. El fragmento obtenido de aproximadamente 3,8 kb se fosforiló y después se autoligó para construir un vector de expresión de cadena ligera de anticuerpo quimérico y humanizado pCMA-LK que tuviera una secuencia señal, un sitio de clonación, y la secuencia codificante de la región constante de la cadena k humana corriente abajo de un promotor de CMV.

Conjunto de cebadores

5'-TATACCGTCGACCTCTAGCTAGAGCTTGGC-3' (SEQ ID NO: 19; cebador 3.3-F1)
5'-GCTATGGCAGGGCCTGCCGCCCGACGTTG-3' (SEQ ID NO: 20; cebador 3.3-R1)

40 4)-2 Construcción del vector de expresión de cadena pesada de tipo IgG1 quimerizada y humanizada, pCMA-G1

Un fragmento de ADN, obtenido a través de la digestión de pCMA-LK con XbaI y PmeI para eliminar la secuencia codificante de una señal de secreción de la cadena k y una región constante de la cadena k humana, se ligó con un fragmento de ADN (mostrado en la SEQ ID NO: 21 del Listado de Secuencias) que comprendía una secuencia que codificaba una secuencia señal de cadena pesada humana y aminoácidos de una región constante de IgG1 humana, usando un kit de clonación por PCR In-Fusion Advantage para construir un vector de expresión de cadena pesada de tipo IgG1 de anticuerpo quimérico y humanizado pCMA-G1 que tenía una secuencia señal, un sitio de clonación, y la secuencia codificante de la región constante de la cadena pesada de IgG1 humana corriente abajo de un promotor de CMV.

4)-3 Construcción de vectores de expresión de cadena ligera del anticuerpo humano quimerizado anti Orai1 humano

50 4)-3-1 Construcción del vector de expresión cR118 L de cadena ligera de R118 humano quimerizado

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de la cadena ligera de R118 obtenida en el Ejemplo 3)-2 (servicio GeneArt Artificial Gene Synthesis). Un fragmento de ADN de aproximadamente 0,7 kb, obtenido mediante la escisión del fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de la cadena ligera de R118 con las enzimas de restricción XbaI y PmeI, se insertó

en un fragmento de ADN de aproximadamente 3,4 kb, obtenido mediante la escisión del vector de uso general pCMA-LK para la expresión de la cadena ligera del anticuerpo quimerizado y humanizado, con las mismas enzimas de restricción anteriores, usando Ligation High ver. 2 (Toyobo Co., Ltd.) para construir un vector de expresión de cadena ligera de R118 quimerizado humano (cR118_L). El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA-LK/cR118_L". La secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de cR118 quimerizado humano y la secuencia de aminoácidos de esta cadena ligera se muestran en las SEQ ID NO: 22 y 23 (Figura 18), respectivamente, del Listado de Secuencias.

4)-3-2 Construcción del vector de expresión cR198_L de cadena ligera de R198 humano quimerizado

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de la cadena ligera de R198 obtenida en el Ejemplo 3)-2 (servicio GeneArt Artificial Gene Synthesis). Un fragmento de ADN de aproximadamente 0,7 kb, obtenido mediante la escisión del fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de la cadena ligera de R198 con las enzimas de restricción XbaI y PmeI, se insertó en un fragmento de ADN de aproximadamente 3,4 kb, obtenido mediante la escisión del vector de uso general pCMA-LK para la expresión de la cadena ligera del anticuerpo quimerizado y humanizado, con las mismas enzimas de restricción anteriores, usando Ligation High ver. 2 (Toyobo Co., Ltd.), para construir un vector de expresión de cadena ligera de R198 quimerizado humano (cR198_L). El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA-LK/cR198_L". La secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de cR198 quimerizado humano y la secuencia de aminoácidos de esta cadena ligera se muestran en las SEQ ID NO: 24 y 25 (Figura 19), respectivamente, del Listado de Secuencias.

4)-4 Construcción de vectores de expresión de cadena pesada del anticuerpo humano quimerizado anti Orai1 humano

4)-4-1 Construcción del vector de expresión cR118_H de cadena pesada de R118 humano quimerizado

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de la cadena pesada de R118 obtenida en el Ejemplo 3)-2 (servicio GeneArt Artificial Gene Synthesis). Un fragmento de ADN de aproximadamente 0,3 kb, obtenido mediante la escisión del fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de la cadena pesada de R118 con una enzima de restricción BlnI, se insertó en un fragmento de ADN de aproximadamente 4,5 kb obtenido mediante la escisión del vector de expresión de cadena pesada de tipo IgG1 humanizado pCMA-G1 con la misma enzima de restricción anterior usando Ligation High ver. 2, para construir un vector de expresión de cadena pesada de R118 humano quimerizado (cR118_H). El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA-G1/cR118_H". La secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de cR118 humana quimerizada y la secuencia de aminoácidos de esta cadena ligera, se muestran en las SEQ ID NO: 26 y 27 (Figura 20), respectivamente, del Listado de Secuencias.

4)-4-2 Construcción del vector de expresión cR198_H de cadena pesada de R198 humano quimerizado

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de la cadena pesada de R198 obtenida en el Ejemplo 3)-2 (servicio GeneArt Artificial Gene Synthesis). Un fragmento de ADN de aproximadamente 0,3 kb, obtenido mediante la escisión del fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de la cadena pesada de R198 con una enzima de restricción BlnI, se insertó en un fragmento de ADN de aproximadamente 4,5 kb obtenido mediante la escisión del vector de expresión de cadena pesada de tipo IgG1 humanizado pCMA-G1 con la misma enzima de restricción anterior usando Ligation High ver. 2, para construir un vector de expresión de cadena pesada de R198 quimerizado humano (cR198_H). El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA-G1/cR198_H". La secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de cR198 humana quimerizada y la secuencia de aminoácidos de esta cadena ligera, se muestran en las SEQ ID NO: 28 y 29 (Figura 21), respectivamente, del Listado de Secuencias.

4)-5 Preparación del anticuerpo humano quimerizado anti Orai1 humano

4)-5-1 Producción del anticuerpo humano quimerizado anti Orai1 humano

Células FreeStyle 293F (Invitrogen Corp.) se subcultivaron y cultivaron según el manual de instrucciones.

En un frasco de 30 ml (Thermo Fisher Scientific Inc.) se inocularon 10^7 células FreeStyle 293F (Life Technologies Corp.) en la fase de crecimiento logarítmico, preparado a 9 ml por dilución con medio de expresión FreeStyle 293 (Life Technologies Corp.), y después se cultivó agitando a 135 rpm a una temperatura de 37°C durante 1 hora, en una incubadora con CO₂ al 8 %. Se disolvieron 30 µg de polietilenimina (Polysciences n.º 24765) en 500 µl de Opti-Pro SFM (Life Technologies Corp.). A continuación, cada vector de expresión de cadena pesada de anticuerpo humano quimerizado anti Orai1 humano (4 µg) y cada vector de expresión de cadena ligera de anticuerpo humano quimerizado anti Orai1 humano (6 µg), preparados usando el kit QIAGEN Plasmid Maxi (Qiagen NV), se suspendieron en 500 µl de Opti-Pro SFM. Se añadieron 500 µl de la solución mixta de vector de expresión/Opti-Pro SFM a 500 µl de la solución mixta de polietilenimina/Opti-Pro SFM y la mezcla se agitó suavemente, se dejó durante 5 minutos más y después se añadió a las células 293F FreeStyle. Las células se cultivaron con agitación a 95 rpm a 37°C durante 5 a 7 días en una incubadora con CO₂ al 8 % y el sobrenadante del cultivo obtenido se filtró a través

de un filtro Millex de 0,22 µm (Millipore Corp.).

El anticuerpo R118 humano quimerizado, obtenido mediante la combinación de pCMA-G1/cR118_H y pCMA-LK/cR118_L, se denominó "cR118". Asimismo, el anticuerpo R198 humano quimerizado, obtenido mediante la combinación de pCMA-G1/cR198_H y pCMA-LK/cR198_L, se denominó "cR198".

5 4)-5-2 Purificación del anticuerpo humano quimerizado anti Orai1 humano

Cada sobrenadante de cultivo obtenido en el ejemplo 4)-5-1, se purificó mediante cromatografía de afinidad de proteína A recombinante en una etapa. En primer lugar, se aplicaron 10 ml del sobrenadante del cultivo a MabSelectSuRe (GE Healthcare Bio-Sciences Corp.) equilibrado con PBS. Después de introducir toda la solución de cultivo en la columna, la columna se lavó con 7 ml de PBS. A continuación, la elución se realizó con 5 ml de arginina-HCl 2 M, a un pH de 4,0, y el eluido se reemplazó por tampón con 4 ml de un tampón de histidina (histidina 25 mM, sorbitol al 5 %, pH 6,0) usando una columna de desalinización PD-10 (GE Healthcare Bio-Sciences Corp.). Finalmente, la solución se concentró en aproximadamente 100 µl usando Amicon Ultracel 30K (límite de peso molecular: 30 K, Millipore Corp.) y se usó como muestra purificada.

[Ejemplo 5] Actividad *in vitro* del anticuerpo humano quimerizado anti Orai1 humano

15 5)-1 Actividad de unión a antígeno del anticuerpo humano quimerizado anti Orai1 humano mediante citometría de flujo

Para evaluar la especificidad de unión de Orai1 humano, la suspensión de células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-DEST o la suspensión de células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1, preparada mediante el procedimiento mostrado en el ejemplo 1)-4-1, se centrifugó para eliminar un sobrenadante. Después, las células HEK293T se suspendieron mediante la adición del anticuerpo humano quimerizado anti Orai1 humano, cR118 o cR198, preparado en el ejemplo 4)-5 o de un anticuerpo de control de IgG humana (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.), y se incubaron a 4°C durante 30 minutos. Las células se lavaron dos veces con PBS que contenía FBS al 5 %, después se suspendieron mediante la adición de anti IgG humana conjugada con FITC (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.) diluido 100 veces con PBS que contenía FBS al 5 % y se incubaron durante 30 minutos a 4 °C. Las células se lavaron dos veces con PBS que contenía FBS al 5 % y después se resuspendieron en PBS que contenía FBS al 5 % y yoduro de propidio 1 µg/ml (Invitrogen Corp.), seguido de detección usando un citómetro de flujo (FC500). Los datos se analizaron usando FlowJo. Después de excluir por selección las células muertas positivas a yoduro de propidio, la intensidad de fluorescencia de FITC de las células vivas, se representó gráficamente en forma de histograma, para calcular la intensidad de fluorescencia media (IFM). cR118 y cR198 no se unieron a las células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-DEST y, como se muestra en la figura 3, cada uno de ellos se unió solo a las células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1 de una manera dependiente de la concentración, lo que demuestra que cada uno de estos anticuerpos se une específicamente a Orai1 humano. Por otro lado, dicha unión no se observó en el anticuerpo de control de IgG humana.

35 5)-2 Efecto inhibitorio de la activación de la línea de linfocitos T humanos del anticuerpo humano quimerizado anti Orai1 humano

Se prepararon células Jurkat de la línea de linfocitos T humanos a una concentración de $1,5 \times 10^6$ células/ml en RPMI1640 que contenía FBS al 10 %, penicilina 100 U/ml y estreptomycin 100 µg/ml, se inocularon 80 µl/pocillo en una placa de cultivo celular de 96 pocillos y se pretrataron con el anticuerpo humano quimerizado anti Orai1 humano, cR198 o cR118, el anticuerpo precursor R198, o un anticuerpo de control de IgG humana añadido a 10 µl/pocillo a 37°C durante 60 minutos con CO₂ al 5 %. Después, se añadió PMA 100 ng/ml y A23187 1 µg/ml a 10 µl/pocillo y se agitó bien, seguido de cultivo durante aproximadamente 16 horas a 37°C con CO₂ al 5 %. La placa se agitó bien y después se centrifugó a 600 g durante 3 minutos. La concentración de IL-2 contenida en el sobrenadante se midió mediante ensayo ELISA. En la Figura 4 se muestra que cada uno de los anticuerpos humanos quimerizados anti Orai1 humanos preparados, inhibe, de una manera dependiente de la concentración, la liberación de IL-2 de células Jurkat tratadas con PMA y A23187. Cada uno de cR118 y cR198 inhibió la liberación de IL-2 de las células Jurkat de una manera dependiente de la concentración siendo su dosis de inhibición equivalente a la del anticuerpo precursor R198. Por otro lado, dicha inhibición no se observó en el anticuerpo de control de IgG humana.

50 [Ejemplo 6] Diseño de la versión humanizada hR198 del anticuerpo humano quimerizado anti Orai1 humano, cR198

6)-1 Modelado molecular de las regiones variables de R198

El modelado molecular de las regiones variables de cR198 se llevó a cabo mediante un procedimiento conocido en general como modelado de homología (Methods in Enzymology, 203, 121-153, (1991)). Las regiones variables de R198 determinadas anteriormente, se compararon con las secuencias primarias (se dispone de las estructuras tridimensionales obtenidas de estructuras cristalinas de rayos X) de las regiones variables de inmunoglobulina humana registradas en el banco de datos de proteínas (Nuc. Acid Res. 28, 235-242 (2000)). Como resultado, 1AJ7 se seleccionó como el que tenía la mayor homología de secuencia con la región variable de cadena ligera de cR198.

Asimismo, se seleccionó 1XGY como el que tenía la mayor homología de secuencia con la región variable de cadena pesada de cR198. Las estructuras tridimensionales de las regiones marco conservadas se prepararon como un "modelo de región marco conservada" combinando las coordenadas de 1AJ7 y 1XGY correspondientes a las cadenas ligera y pesada de cR198. Las CDR de cR198 se asignaron como grupos 11A, 7A, 9A, 10A y 10A en la CDRL1, CDRL2, CDRL3, CDRH1 y CDRH2, respectivamente, según la clasificación de Thornton y col. (J. Mol. Biol., 263, 800-815, (1996)). Su CDRH3 se clasificó en k(6)- según la norma H3 (FEBS letter, 399, 1-8 (1996)). Posteriormente, la conformación habitual de cada CDR se incorporó en el modelo de región marco conservada.

Finalmente, en cuanto a la energía, se realizó un cálculo de energía para excluir el contacto interatómico desfavorable con el fin de obtener posibles modelos moleculares de las regiones variables de cR198. Estos procedimientos se realizaron usando el programa Prime de predicción de la estructura tridimensional de las proteínas, disponible en el comercio y el programa de búsqueda de conformación MacroModel (Schrodinger, LLC).

6)-2 Diseño de la secuencia de aminoácidos del anticuerpo R198 humanizado

El anticuerpo humanizado R198 se construyó mediante un procedimiento conocido en general como injertación de CDR (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 10029-10033 (1989)). Basándose en la homología de aminoácidos en las regiones marco conservadas, se seleccionó un anticuerpo aceptor.

Las secuencias de las regiones marco conservadas de cR198 se compararon con las secuencias de todas las regiones marco conservadas humanas registradas en la base de datos de Kabat (Nuc. Acid Res., 29, 205-206 (2001)) de secuencias de aminoácidos de anticuerpos. Como resultado, se seleccionó el anticuerpo 1C10'CL como aceptor debido a su homología de secuencia del 71 % en cuanto a las regiones marco conservadas. Los restos de aminoácido de las regiones marco conservadas de 1C10'CL se alinearon con los restos de aminoácido de las regiones marco conservadas de cR198 para identificar las posiciones de aminoácidos que no coincidían entre ellas. Las posiciones de estos restos se analizaron usando el modelo tridimensional de cR198 construido anteriormente. Después, los restos donantes a injertar en el aceptor se seleccionaron según los criterios proporcionados por Queen y col. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 10029-10033 (1989)).

Algunos restos donantes seleccionados de este modo se transfirieron al anticuerpo aceptor para construir la secuencia de R198 humanizada como se describe más adelante en los ejemplos.

Además, en cada CDR o FR de cR198 se reemplazaron de 1 a 5 restos de aminoácido por restos de aminoácido de cR118, para construir una secuencia de R198 humanizada genomodificada de CDR como se describe más adelante en los ejemplos.

6)-3 Diseño de cadena ligera de R198 humanizada hR198_L

6)-3-1 cadena ligera tipo hR198_L1:

Se diseñó una cadena ligera de R198 humanizada reemplazando un resto de treonina por uno de serina en la posición de aminoácido 30, un resto de prolina por uno de serina en la posición de aminoácido 32, un resto de leucina por uno de valina en la posición de aminoácido 35, un resto de ácido glutámico por uno de ácido aspártico en la posición de aminoácido 37, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 42, un resto de ácido aspártico por uno de glicina en la posición de aminoácido 61, un resto de glicina por uno de lisina en la posición de aminoácido 62, un resto de serina por uno de alanina en la posición de aminoácido 63, un resto de valina por uno de prolina en la posición de aminoácido 64, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 92, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 94, un resto de treonina por uno de serina en la posición de aminoácido 96, un resto de ácido glutámico por uno de glutamina en la posición de aminoácido 99, un resto de serina por uno de prolina en la posición de aminoácido 100, un resto de treonina por uno de glutamina en la posición de aminoácido 120, un resto de leucina por uno de valina en la posición de aminoácido 124, un resto de leucina por uno de isoleucina en la posición de aminoácido 126, un resto de arginina por uno de lisina en la posición de aminoácido 127 y un resto de alanina por uno de treonina en la posición de aminoácido 129, en cuanto a la cadena ligera de cR198 mostrada en la SEQ ID NO: 25 del Listado de Secuencias que se denominó "cadena ligera de tipo hR198_L1".

En la SEQ ID NO: 30 del Listado de Secuencias se muestra la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_L1. Las posiciones de nucleótidos 61 a 702 codifican una cadena ligera madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de nucleótidos 61 a 378 codifican la región variable. En la SEQ ID NO: 31 del Listado de Secuencias se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_L1. Las posiciones de aminoácidos 21 a 234 representan la cadena ligera madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de aminoácidos 21 a 126 representan la región variable. En la Figura 22 también se muestran las secuencias de las SEQ ID NO: 30 y 31. En la Figura 38 se muestra cada una de las secuencias de CDR y su correspondiente SEQ ID NO.

6)-3-2 cadena ligera de tipo hR198_L2:

Se diseñó una cadena ligera de R198 humanizada reemplazando un resto de treonina por uno de serina en la

posición de aminoácido 30, un resto de prolina por uno de serina en la posición de aminoácido 32, un resto de leucina por uno de valina en la posición de aminoácido 35, un resto de ácido glutámico por uno de ácido aspártico en la posición de aminoácido 37, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 42, un resto de ácido aspártico por uno de glicina en la posición de aminoácido 61, un resto de glicina por uno de lisina en la posición de aminoácido 62, un resto de serina por uno de alanina en la posición de aminoácido 63, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 92, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 94, un resto de treonina por uno de serina en la posición de aminoácido 96, un resto de ácido glutámico por uno de glutamina en la posición de aminoácido 99, un resto de serina por uno de prolina en la posición de aminoácido 100, un resto de treonina por uno de glutamina en la posición de aminoácido 120, un resto de leucina por uno de valina en la posición de aminoácido 124, un resto de leucina por uno de isoleucina en la posición de aminoácido 126, un resto de arginina por uno de lisina en la posición de aminoácido 127 y un resto de alanina por uno de treonina en la posición de aminoácido 129, en cuanto a la cadena ligera de cR198 mostrada en la SEQ ID NO: 25 del listado de secuencias que se denominó "cadena ligera de tipo hR198_L2".

En la SEQ ID NO: 32 del Listado de Secuencias se muestra la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_L2. Las posiciones de nucleótidos 61 a 702 codifican una cadena ligera madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de nucleótidos 61 a 378 codifican la región variable. La secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_L2 se muestra en la SEQ ID NO: 33 del listado de secuencias. Las posiciones de aminoácidos 21 a 234 representan la cadena ligera madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de aminoácidos 21 a 126 representan la región variable. En la Figura 23 también se muestran las secuencias de las SEQ ID NO: 32 y 33. En la Figura 38 se muestra cada una de las secuencias de CDR y su correspondiente SEQ ID NO.

6)-3-3 cadena ligera de tipo hR198_L3:

Se diseñó una cadena ligera de R198 humanizada reemplazando un resto de treonina por uno de serina en la posición de aminoácido 30, un resto de prolina por uno de serina en la posición de aminoácido 32, un resto de leucina por uno de valina en la posición de aminoácido 35, un resto de ácido glutámico por uno de ácido aspártico en la posición de aminoácido 37, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 42, un resto de ácido aspártico por uno de glicina en la posición de aminoácido 61, un resto de glicina por uno de lisina en la posición de aminoácido 62, un resto de serina por uno de alanina en la posición de aminoácido 63, un resto de valina por uno de prolina en la posición de aminoácido 64, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 92, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 94, un resto de treonina por uno de serina en la posición de aminoácido 96, un resto de ácido glutámico por uno de glutamina en la posición de aminoácido 99, un resto de serina por uno de prolina en la posición de aminoácido 100, un resto de tirosina por uno de fenilalanina en la posición de aminoácido 114, un resto de treonina por uno de glutamina en la posición de aminoácido 120, un resto de leucina por uno de valina en la posición de aminoácido 124, un resto de leucina por uno de isoleucina en la posición de aminoácido 126, un resto de arginina por uno de lisina en la posición de aminoácido 127 y un resto de alanina por uno de treonina en la posición de aminoácido 129, en cuanto a la cadena ligera de cR198 mostrada en la SEQ ID NO: 25 del Listado de Secuencias que se denominó "cadena ligera de tipo hR198_L3".

En la SEQ ID NO: 34 del Listado de Secuencias se muestra la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_L3. Las posiciones de nucleótidos 61 a 702 codifican una cadena ligera madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de nucleótidos 61 a 378 codifican la región variable. En la SEQ ID NO: 35 del Listado de Secuencias se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_L3. Las posiciones de aminoácidos 21 a 234 representan la cadena ligera madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de aminoácidos 21 a 126 representan la región variable. En la Figura 24 también se muestran las secuencias de las SEQ ID NO: 34 y 35. En la Figura 38 se muestra cada una de las secuencias de CDR y su correspondiente SEQ ID NO.

6)-3-4 cadena ligera de tipo hR198_L4:

Se diseñó una cadena ligera de R198 humanizada reemplazando un resto de treonina por uno de serina en la posición de aminoácido 30, un resto de prolina por uno de serina en la posición de aminoácido 32, un resto de leucina por uno de valina en la posición de aminoácido 35, un resto de ácido glutámico por uno de ácido aspártico en la posición de aminoácido 37, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 42, un resto de ácido aspártico por uno de glicina en la posición de aminoácido 61, un resto de glicina por uno de lisina en la posición de aminoácido 62, un resto de serina por uno de alanina en la posición de aminoácido 63, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 92, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 94, un resto de treonina por uno de serina en la posición de aminoácido 96, un resto de ácido glutámico por uno de glutamina en la posición de aminoácido 99, un resto de serina por uno de prolina en la posición de aminoácido 100, un resto de tirosina por uno de fenilalanina en la posición de aminoácido 114, un resto de treonina por uno de glutamina en la posición de aminoácido 120, un resto de leucina por uno de valina en la posición de aminoácido 124, un resto de leucina por uno de isoleucina en la posición de aminoácido 126, un resto de arginina por uno de lisina en la posición de aminoácido 127 y un resto de alanina por uno de treonina en la posición de aminoácido 129, en cuanto a la cadena ligera de cR198 mostrada en la SEQ ID NO: 25 del Listado de Secuencias

que se denominó "cadena ligera de tipo hR198_L4".

En la SEQ ID NO: 36 del Listado de Secuencias se muestra la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_L4. Las posiciones de nucleótidos 61 a 702 codifican una cadena ligera madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de nucleótidos 61 a 378 codifican la región variable. En la SEQ ID NO: 37 del Listado de Secuencias se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_L4. Las posiciones de aminoácidos 21 a 234 representan la cadena ligera madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de aminoácidos 21 a 126 representan la región variable. En la Figura 25 también se muestran las secuencias de las SEQ ID NO: 36 y 37. En la Figura 38 se muestra cada una de las secuencias de CDR y su correspondiente SEQ ID NO.

6)-4 Diseño de cadena pesada humanizada de R198 hR198_H

6)-4-1 cadena pesada de tipo hR198_H1:

Se diseñó una cadena pesada de R198 humanizada reemplazando un resto de glutamina por uno de valina en la posición de aminoácido 24, un resto de leucina por uno de valina en la posición de aminoácido 30, un resto de alanina por uno de lisina en la posición de aminoácido 31, un resto de serina por uno de alanina en la posición de aminoácido 35, un resto de metionina por uno de valina en la posición de aminoácido 37, un resto de isoleucina por uno de valina en la posición de aminoácido 39, un resto de isoleucina por uno de valina en la posición de aminoácido 56, un resto de lisina por uno de arginina en la posición del aminoácido 57, un resto de treonina por uno de alanina en la posición de aminoácido 59, un resto de treonina por uno de prolina en la posición de aminoácido 60, un resto de lisina por uno de arginina en la posición del aminoácido 86, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 95, un resto de fenilalanina por uno de tirosina en la posición de aminoácido 99, un resto de glutamina por uno de ácido glutámico en la posición de aminoácido 101, un resto de treonina por uno de arginina en la posición de aminoácido 106, un resto de prolina por uno de serina en la posición de aminoácido 107, un resto de ácido aspártico por uno de ácido glutámico en la posición de aminoácido 108, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 110, un resto de valina por uno de treonina en la posición de aminoácido 130 y un resto de metionina por uno de leucina en la posición de aminoácido 131 en cuanto a la cadena pesada de cR198 mostrada en la SEQ ID NO: 29 del Listado de Secuencias, que se denominó "cadena pesada de tipo hR198_H1".

En la SEQ ID NO: 38 del Listado de Secuencias se muestra la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_H1. Las posiciones de nucleótidos 58 a 1398 codifican una cadena pesada madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de nucleótidos 58 a 408 codifican la región variable. En la SEQ ID NO: 39 del Listado de Secuencias se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_H1. Las posiciones de aminoácidos 20 a 466 representan la cadena pesada madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de aminoácidos 20 a 136 representan la región variable. En la Figura 26 también se muestran las secuencias de las SEQ ID NO: 38 y 39. En la Figura 38 se muestra cada una de las secuencias de CDR y su correspondiente SEQ ID NO.

6)-4-2 cadena pesada de tipo hR198_H2:

Se diseñó una cadena pesada de R198 humanizada reemplazando un resto de glutamina por uno de valina en la posición de aminoácido 24, un resto de leucina por uno de valina en la posición de aminoácido 30, un resto de alanina por uno de lisina en la posición de aminoácido 31, un resto de serina por uno de alanina en la posición de aminoácido 35, un resto de metionina por uno de valina en la posición de aminoácido 37, un resto de isoleucina por uno de valina en la posición de aminoácido 39, un resto de lisina por uno de arginina en la posición del aminoácido 57, un resto de treonina por uno de alanina en la posición de aminoácido 59, un resto de treonina por uno de prolina en la posición de aminoácido 60, un resto de lisina por uno de arginina en la posición del aminoácido 86, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 95, un resto de fenilalanina por uno de tirosina en la posición de aminoácido 99, un resto de glutamina por uno de ácido glutámico en la posición de aminoácido 101, un resto de treonina por uno de arginina en la posición de aminoácido 106, un resto de prolina por uno de serina en la posición de aminoácido 107, un resto de ácido aspártico por uno de ácido glutámico en la posición de aminoácido 108, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 110, un resto de valina por uno de treonina en la posición de aminoácido 130 y un resto de metionina por uno de leucina en la posición de aminoácido 131 en cuanto a la cadena pesada de cR198 mostrada en la SEQ ID NO: 29 del listado de secuencias que se denominó "cadena pesada de tipo hR198_H2".

En la SEQ ID NO: 40 del Listado de Secuencias se muestra la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_H2. Las posiciones de nucleótidos 58 a 1398 codifican una cadena pesada madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de nucleótidos 58 a 408 codifican la región variable. En la SEQ ID NO: 41 del Listado de Secuencias se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_H2. Las posiciones de aminoácidos 20 a 466 representan la cadena pesada madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de aminoácidos 20 a 136 representan la región variable. En la Figura 27 también se muestran las secuencias de las SEQ ID NO: 40 y 41. En la Figura 38 se muestra cada una de las secuencias de CDR y su correspondiente SEQ ID NO.

6)-4-3 cadena pesada de tipo hR198_H3:

Se diseñó una cadena pesada de R198 humanizada reemplazando un resto de glutamina por uno de valina en la posición de aminoácido 24, un resto de leucina por uno de valina en la posición de aminoácido 30, un resto de alanina por uno de lisina en la posición de aminoácido 31, un resto de serina por uno de alanina en la posición de aminoácido 35, un resto de metionina por uno de valina en la posición de aminoácido 37, un resto de isoleucina por uno de valina en la posición de aminoácido 39, un resto de serina por uno de alanina en la posición de aminoácido 50, un resto de isoleucina por uno de valina en la posición de aminoácido 56, un resto de lisina por uno de arginina en la posición del aminoácido 57, un resto de treonina por uno de alanina en la posición de aminoácido 59, un resto de treonina por uno de prolina en la posición de aminoácido 60, un resto de isoleucina por uno de valina en la posición de aminoácido 67, un resto de valina por uno de isoleucina en la posición de aminoácido 70, un resto de ácido glutámico por uno de alanina en la posición de aminoácido 81, un resto de lisina por uno de arginina en la posición del aminoácido 82, un resto de lisina por uno de arginina en la posición del aminoácido 86, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 95, un resto de fenilalanina por uno de tirosina en la posición de aminoácido 99, un resto de glutamina por uno de ácido glutámico en la posición de aminoácido 101, un resto de treonina por uno de arginina en la posición de aminoácido 106, un resto de prolina por uno de serina en la posición de aminoácido 107, un resto de ácido aspártico por uno de ácido glutámico en la posición de aminoácido 108, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 110, un resto de valina por uno de treonina en la posición de aminoácido 130 y un resto de metionina por uno de leucina en la posición de aminoácido 131 en cuanto a la cadena pesada de cR198 mostrada en la SEQ ID NO: 29 del listado de secuencias que se denominó "cadena pesada de tipo hR198_H3".

En la SEQ ID NO: 42 del Listado de Secuencias se muestra la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_H3. Las posiciones de nucleótidos 58 a 1398 codifican una cadena pesada madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de nucleótidos 58 a 408 codifican la región variable. En la SEQ ID NO: 43 del Listado de Secuencias se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_H3. Las posiciones de aminoácidos 20 a 466 representan la cadena pesada madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de aminoácidos 20 a 136 representan la región variable. En la Figura 28 también se muestran las secuencias de las SEQ ID NO: 42 y 43. En la Figura 38 se muestra cada una de las secuencias de CDR y su correspondiente SEQ ID NO.

6)-4-4 cadena pesada de tipo hR198_H4:

Se diseñó una cadena pesada de R198 humanizada reemplazando un resto de glutamina por uno de valina en la posición de aminoácido 24, un resto de leucina por uno de valina en la posición de aminoácido 30, un resto de alanina por uno de lisina en la posición de aminoácido 31, un resto de serina por uno de alanina en la posición de aminoácido 35, un resto de metionina por uno de valina en la posición de aminoácido 37, un resto de isoleucina por uno de valina en la posición de aminoácido 39, un resto de serina por uno de alanina en la posición de aminoácido 50, un resto de lisina por uno de arginina en la posición del aminoácido 57, un resto de treonina por uno de alanina en la posición de aminoácido 59, un resto de treonina por uno de prolina en la posición de aminoácido 60, un resto de isoleucina por uno de valina en la posición de aminoácido 67, un resto de valina por uno de isoleucina en la posición de aminoácido 70, un resto de ácido glutámico por uno de alanina en la posición de aminoácido 81, un resto de lisina por uno de arginina en la posición del aminoácido 82, un resto de lisina por uno de arginina en la posición del aminoácido 86, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 95, un resto de fenilalanina por uno de tirosina en la posición de aminoácido 99, un resto de glutamina por uno de ácido glutámico en la posición de aminoácido 101, un resto de treonina por uno de arginina en la posición de aminoácido 106, un resto de prolina por uno de serina en la posición de aminoácido 107, un resto de ácido aspártico por uno de ácido glutámico en la posición de aminoácido 108, un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 110, un resto de valina por uno de treonina en la posición de aminoácido 130 y un resto de metionina por uno de leucina en la posición de aminoácido 131 en cuanto a la cadena pesada de cR198 mostrada en la SEQ ID NO: 29 del listado de secuencias que se denominó "cadena pesada de tipo hR198_H4".

En la SEQ ID NO: 44 del Listado de Secuencias se muestra la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_H4. Las posiciones de nucleótidos 58 a 1398 codifican una cadena pesada madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de nucleótidos 58 a 408 codifican la región variable. En la SEQ ID NO: 45 del Listado de Secuencias se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_H4. Las posiciones de aminoácidos 20 a 466 representan la cadena pesada madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de aminoácidos 20 a 136 representan la región variable. En la Figura 29 también se muestran las secuencias de las SEQ ID NO: 44 y 45. En la Figura 38 se muestra cada una de las secuencias de CDR y su correspondiente SEQ ID NO.

[Ejemplo 7] Preparación del anticuerpo humanizado anti Orai1 humano

7)-1 Construcción del vector de expresión hR198_L de cadena ligera del anticuerpo humanizado anti Orai1 humano

7)-1-1 Construcción del vector de expresión hR198_L1

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de hR198_L1 mostrada en las posiciones de nucleótidos 38 a 402 en la secuencia de nucleótidos de hR198_L1 representada por la SEQ ID NO: 30 del Listado de Secuencias (servicio GeneArt Artificial Gene Synthesis). El fragmento de ADN sintetizado se escindió con las enzimas de restricción Aval y EcoRV y se insertó en el sitio correspondiente del vector de expresión de cadena ligera del anticuerpo quimérico y humanizado pCMA-LK escindido con las mismas enzimas de restricción anteriores para construir un vector de expresión hR198_L1. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA-LK/hR198_L1".

7)-1-2 Construcción del vector de expresión hR198_L2

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de hR198_L2 mostrada en las posiciones de nucleótidos 38 a 402 en la secuencia de nucleótidos de hR198_L2 representada por la SEQ ID NO: 32 del Listado de Secuencias (servicio de síntesis de genes artificiales GeneArt). El fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de hR198_L2 se amplificó con el fragmento de ADN sintetizado como molde usando KOD -Plus- (Toyobo Co., Ltd.), se escindió con la enzima de restricción BsiWI y se insertó en el sitio correspondiente del vector de expresión de cadena ligera del anticuerpo quimérico y humanizado pCMA-LK escindido con la enzima de restricción BsiWI para construir un vector de expresión hR198_L2. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA-LK/hR198_L2".

7)-1-3 Construcción de los vectores de expresión hR198_L3 y hR198_L4

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de hR198_L4 mostrada en las posiciones de nucleótidos 38 a 402 en la secuencia de nucleótidos de hR198_L4 representada por la SEQ ID NO: 36 del Listado de Secuencias (servicio GeneArt Artificial Gene Synthesis). Se construyó un vector de expresión hR198_L4 mediante el mismo procedimiento que el del Ejemplo 7)-1-2. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA-LK/hR198_L4".

Para reemplazar el resto de valina por uno de prolina en la posición de aminoácido 64, se introdujo una mutación con pCMA-LK/hR198_L4 como molde, usando el kit de mutagénesis dirigida QuikChange (Stratagene Corp.). El vector de expresión obtenido que comprendía la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 34 del Listado de Secuencias, se denominó "pCMA-LK/hR198_L3".

7)-2 Construcción del vector de expresión hR198_H de cadena pesada del anticuerpo humanizado anti Orai1 humano

7)-2-1 Construcción de los vectores de expresión hR198_H1 y hR198_H2

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de hR198_H0 mostrada en las posiciones de nucleótidos 36 a 425 en la secuencia de nucleótidos de hR198_H0 representada por la SEQ ID NO: 111 del Listado de Secuencias como candidato para la humanización de la cadena pesada del anticuerpo anti Orai1 hR198 (servicio GeneArt Artificial Gene Synthesis). El fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de hR198_H0 se amplificó con el fragmento de ADN sintetizado como molde usando KOD -Plus- y se insertó en el sitio correspondiente del vector de expresión de cadena pesada del anticuerpo quimérico y humanizado de tipo IgG1 pCMA-G1 escindido con la enzima de restricción BlnI usando un kit de clonación por PCR In-Fusion HD (Clontech Laboratories, Inc.) para construir un vector de expresión hR198_H0. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA-G1/hR198_H0". En la SEQ ID NO: 112 se muestra la secuencia de aminoácidos de hR198_H0.

A continuación, para reemplazar un resto de triptófano por un resto de tirosina en la posición de aminoácido 66, se introdujo una mutación con pCMA-G1/hR198_H0 como molde, usando un kit de mutagénesis KOD-Plus (Toyobo Co., Ltd.). El vector de expresión obtenido que comprendía la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 40 del Listado de Secuencias, se denominó "pCMA-G1/hR198_H2".

A continuación, para reemplazar un resto de isoleucina por uno de valina en la posición de aminoácido 56, se introdujo una mutación con pCMA-G1/hR198_H2 como molde, usando un kit de mutagénesis dirigida QuikChange (Stratagene Corp.) y el conjunto de cebadores proporcionado más adelante. El vector de expresión obtenido que comprendía la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 38 del listado de secuencias se denominó "pCMA-G1/hR198_H1".

7)-2-2 Construcción de los vectores de expresión hR198_H3, hR198_H4 y hR198_H5

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de hR198_H5 mostrada en las posiciones de nucleótidos 36 a 425 en la secuencia de nucleótidos de hR198_H5 representada por la SEQ ID NO: 113 del Listado de Secuencias como candidato para la humanización de la cadena pesada del anticuerpo anti Orai1 hR198 (servicio GeneArt Artificial Gene Synthesis). Se construyó un vector de expresión hR198_H5 mediante el mismo procedimiento que el del Ejemplo 7)-2-1. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA-G1/hR198_H5". En la SEQ ID NO: 114 se muestra la secuencia de aminoácidos de hR198_H5.

A continuación, para reemplazar un resto de triptófano por uno de isoleucina en la posición de aminoácido 66 y un resto de tirosina por uno de valina en la posición de aminoácido 67, respectivamente, se introdujeron mutaciones con pCMA-G1/H5 como molde usando un kit de mutagénesis KOD-Plus. El vector de expresión obtenido que comprendía la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 44 se denominó "pCMA-G1/hR198_H4".

- 5 A continuación, para reemplazar un resto de isoleucina por uno de valina en la posición de aminoácido 56, se introdujo una mutación mediante el mismo procedimiento que el del Ejemplo 7)-2-1 con pCMA-G1/hR198_H4 como molde. El vector de expresión obtenido que comprendía la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 44 del Listado de Secuencias, se denominó "pCMA-G1/hR198_H3".

7)-3 Preparación del anticuerpo humanizado anti Orai1 humano hR198

- 10 Para obtener un sobrenadante de cultivo que contuviese el anticuerpo, a través del mismo procedimiento que el de 4)-5-1, células FreeStyle 293F se transfectaron con cada vector de expresión de cadena pesada de anticuerpo humanizado anti Orai1 humano y vector de expresión de cadena ligera de anticuerpo humanizado anti Orai1 humano.

- 15 Los anticuerpos humanizados anti Orai1 humanos obtenidos a través de la combinación de pCMA-G1/hR198_H1 y pCMA-LK/hR198_L1, la combinación de pCMA-G1/hR198_H2 y pCMA-LK/hR198_L2, la combinación de pCMA-G1/hR198_H3 y pCMA-LK/hR198_L3 y la combinación de pCMA-G1/hR198_H4 y pCMA-LK/hR198_L4, se denominaron "hR198_H1/I1", "hR198_H2/I2", "hR198_H3/I3" y "hR198_H4/I4", respectivamente.

Para obtener una muestra de anticuerpo purificada, cada sobrenadante de cultivo obtenido se purificó mediante cromatografía de afinidad de proteína A recombinante a través del mismo procedimiento que el de 4)-5-2.

20 **[Ejemplo 8] Actividad *in vitro* del anticuerpo humanizado anti Orai1 humano**

8)-1 Actividad de unión al antígeno del anticuerpo humanizado anti Orai1 humano mediante citometría de flujo

- 25 Para evaluar la especificidad de unión de Orai1 humano, la suspensión de células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-DEST o la suspensión de células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1, preparada mediante el procedimiento mostrado en 1)-4-1, se centrifugó para eliminar el sobrenadante. Después, las células HEK293T se suspendieron mediante la adición del anticuerpo humanizado anti Orai1 hR198_H1/I1, hR198_H2/I2, hR198_H3/I3 o hR198_H4/I4, preparado en 7)-5 o el anticuerpo precursor cR118 o cR198, y se incubaron durante 30 minutos a 4 °C. Las células se lavaron dos veces con PBS que contenía FBS al 5 %, después se suspendieron mediante la adición de anti IgG humana conjugada con FITC diluido 100 veces con PBS que contenía FBS al 5 % y se incubaron durante 30 minutos a 4 °C. Las células se lavaron dos veces con PBS que contenía FBS al 5 % y después se resuspendieron en PBS que contenía FBS al 5 % y yoduro de propidio 1 µg/ml, seguido de detección usando un citómetro de flujo (FC500). Los datos se analizaron usando Flowjo. Después de excluir por selección las células muertas positivas a yoduro de propidio, la intensidad de fluorescencia FITC de las células vivas, se representó gráficamente en forma de histograma, para calcular la intensidad de fluorescencia media (IFM). Los anticuerpos humanizados anti Orai1 humanos hR198_H1/I1, hR198_H2/I2, hR198_H3/I3 y hR198_H4/I4 no se unieron a las células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-DEST y, como se muestra en la figura 5, cada uno de ellos se unió solo a las células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1 de una manera dependiente de la concentración, como sucede con el anticuerpo precursor cR118 o cR198, lo que demuestra que cada uno de estos anticuerpos se une específicamente a Orai1 humano.

40 8)-2 Efecto inhibidor de la activación de la línea de linfocitos T humanos del anticuerpo humanizado anti Orai1 humano

- 45 Se prepararon células Jurkat de la línea de linfocitos T humanos a una concentración de $1,5 \times 10^6$ células/ml en RPMI1640 que contenía FBS al 10 %, penicilina 100 U/ml y estreptomina 100 µg/ml, se inocularon a 80 µl/pocillo en una placa de cultivo celular de 96 pocillos, y se pretrataron con el anticuerpo humanizado anti Orai1 humano hR198_H1/I1, hR198_H2/I2, hR198_H3/I3 o hR198_H4/I4 o con el anticuerpo humano quimerizado anti Orai1 humano, cR118 o cR198, añadido a 10 µl/pocillo a 37°C durante 60 minutos con CO₂ al 5 %. Después, se añadió PMA 100 ng/ml y A23187 1 µg/ml a 10 µl/pocillo y se agitó bien, seguido de cultivo durante aproximadamente 16 horas a 37°C con CO₂ al 5 %. La placa se agitó bien y después se centrifugó a 600 g durante 3 minutos. La concentración de IL-2 contenida en el sobrenadante se midió mediante ensayo ELISA. En la figura 6 se muestra que cada uno de los anticuerpos humanizados anti Orai1 humano inhibe, de una manera dependiente de la concentración, la liberación de IL-2 de células Jurkat tratadas con PMA y A23187. Cada uno de los anticuerpos humanizados anti Orai1 humano, inhibió la liberación de IL-2 de las células Jurkat de una manera dependiente de la concentración, y la actividad inhibidora de hR198_H1/I1 y hR198_H2/I2 fue equivalente a la de los anticuerpos humanos quimerizados anti Orai1 humanos, cR118 y cR198. Por otro lado, hR198_H3/I3 y hR198_H4/I4 presentaron una actividad inhibidora a una concentración más baja que la de cR118 y cR198.

55 **[Ejemplo 9] Identificación de mutaciones potenciadoras de la actividad mediante presentación en ribosomas**

9)-1 Preparación de bibliotecas de cadenas H y cadenas L

Se construyó una biblioteca que contenía cadenas H o cadenas L mutadas con el anticuerpo humanizado anti Orai1 humano hR198_H4/4 como molde y se sometió a la identificación mutaciones potenciadoras de la actividad mediante presentación en ribosomas.

9)-1-1 Preparación de la biblioteca de cadenas H

- 5 Para mutar aleatoriamente la región génica, se llevaron a cabo 80 ciclos de PCR con el gen hR198_H4 como molde, usando el conjunto de cebadores proporcionado más adelante y la ADN polimerasa rTaq (Toyobo Co., Ltd.).
Conjunto de cebadores

5'-ATGCAAGTCCAACTGGTTCAATC-3' (SEQ ID NO: 46; cebador Orai1 HF)
5'-TGACGGAGCCAGCGGGAAGAC-3' (SEQ ID NO: 47; cebador Orai1 CH FR)

- 10 A continuación, para preparar una biblioteca de cadenas H, se llevó a cabo una PCR de extensión solapada, con cada gen de la cadena H mutado aleatoriamente, un sitio 5'UTR que comprendía un promotor de T7 y un fragmento génico TolA, que comprendía, como moldes, c-Myc añadido en 5' y una secuencia SecM añadida en 3', usando el conjunto de cebadores proporcionado más adelante.
Conjunto de cebadores

- 15 5'-CAGGAAACAGCTATGACCATG-3' (SEQ ID NO: 48; cebador M13 rev largo)
5'-CTCGAGTTATTATTAGGTGAGGCGTTGAGG-3' (SEQ ID NO: 49; cebador SecM Stop R)

9)-1-2 Preparación de la biblioteca de cadenas L

- 20 Para mutar la región génica aleatoriamente, se llevaron a cabo 80 ciclos de PCR con el gen hR198_L4 como molde, usando el conjunto de cebadores proporcionado más adelante y la ADN polimerasa rTaq.
Conjunto de cebadores

5'-ATGGACATTCAACTGACCCAAAGC-3' (SEQ ID NO: 50; cebador Orai1 Lc F)
5'-GATAAAACACTCGGGGCCGCCAC-3' (SEQ ID NO: 51; cebador Orai1 CL-FR)

- 25 De la misma manera que en la descripción de 9)-1-1, para preparar una biblioteca de cadenas L, se llevó a cabo una PCR de extensión solapada usando cada gen de la cadena L mutado aleatoriamente y como moldes los dos fragmentos génicos descritos anteriormente.

9)-1-3 Preparación del fragmento génico de la cadena H

La región génica de la cadena H se amplificó mediante PCR con el gen hR198_H4 como molde, usando el conjunto de cebadores proporcionado más adelante y KOD-Plus-.

- 30 5'-ATGCAAGTCCAACTGGTTCAATC-3' (SEQ ID NO: 46; cebador Orai1 HF)
5'-TCATTATTTGTCATCGTCATCTTTATAGTCGAATTCTTCGCCACGATTAAAGGATTT GGTGAC-3' (SEQ ID NO: 52; cebador Orai1 HR-FLAG R)

- 35 A continuación, para preparar un fragmento génico de la cadena H, se llevó a cabo una PCR de extensión solapada con el fragmento génico y un sitio 5'UTR que comprendía un promotor de T7 como moldes, usando el conjunto de cebadores proporcionado más adelante.
Conjunto de cebadores

5'-CAGGAAACAGCTATGACCATG-3' (SEQ ID NO: 48; cebador M13 rev largo)
5'-TCATTATTTGTCATCGTCATCTTTATAGTCGAATTCTTCGCCACGATTAAAGGATTT GGTGAC-3' (SEQ ID NO: 52; cebador Orai1 HR-FLAG R)

- 40 9)-1-4 Preparación del fragmento génico de la cadena L

La región génica de la cadena L se amplificó mediante PCR con el gen hR198_L4 como molde, usando el conjunto de cebadores proporcionado más adelante y KOD-Plus-.

- 45 5'-ATGGACATTCAACTGACCCAAAGC-3' (SEQ ID NO: 50; cebador Orai1 Lc F)
5'-TCATTATTTGTCATCGTCATCTTTATAGTCGAATTCTTCGCCACGATTAAAGGATTT GGTGAC-3' (SEQ ID NO: 53; cebador Orai1 CL-FLAG R)

A continuación, de la misma manera que en la descripción de 9)-1-3, se llevó a cabo una PCR de extensión solapada para preparar un fragmento génico de la cadena L.
Conjunto de cebadores

- 50 5'-CAGGAAACAGCTATGACCATG-3' (SEQ ID NO: 48; cebador M13 rev largo)

5'-TCATTATTTGTCATCGTCATCTTTATAGTCGAATTCTTCGCCACGATTAAAGGATTT GGTGAC-3' (SEQ ID NO: 53; cebador Orai1 CL-FLAG R)

9)-1-5 Preparación de ARNm

5 Cada ARNm se sintetizó con las bibliotecas y los fragmentos génicos preparados en los Ejemplos 9)-1-1 a 9)-1-4 como moldes, usando el Sistema de producción de ARN a gran escala T7 RiboMax Express (Promega Corp.).

9)-2 Exploración mediante presentación en ribosomas

10 Los Fab de cadena H de presentación en ribosomas, se prepararon mediante la combinación de los fragmentos génicos de las bibliotecas de cadena L y de cadena H, y los Fab de cadena L de presentación en ribosomas, se prepararon mediante la combinación de los fragmentos génicos de las bibliotecas de cadena L y cadena H. A una solución de reacción PURExpress (GeneFrontier Corp.), se añadieron 20 pmol de los ARNm de la biblioteca de cadena H (o cadena L) y 100 pmol de ribosomas y la mezcla se incubó durante 45 minutos a 30 °C. Asimismo, a una solución de reacción PURExpress, se añadieron 40 pmol de los ARNm de cadena L (o cadena H) y 200 pmol de ribosomas y la mezcla se incubó durante 45 minutos a 30 °C. A continuación, las soluciones de reacción postraduccional de la biblioteca de cadena H (o cadena L) y de cadena L (o cadena H), se mezclaron y se incubaron adicionalmente a 30 °C durante 90 minutos para preparar los Fab de presentación en ribosomas de la cadena H (o cadena L). Después, la reacción finalizó enfriando a 4 °C. Posteriormente, se añadió un antígeno a la solución de reacción y la mezcla se agitó suavemente durante 1 hora a 4 °C para que cada Fab se uniera con el antígeno. El antígeno usado era una muestra fijada con formol de células CHO que expresaban de manera constitutiva Orai1 humano, que se establecieron usando pcDNA3.1-hOrai1 preparado en 1)-1-1, o el péptido de la región de bucle de Orai1 humano pegilado marcado con biotina (Sigma-Aldrich Corp.) mostrado a continuación.

20 Péptido de la región de bucle de Orai1 humano pegilado marcado con biotina Biotina-PEG-SGSGFLPLKKQPGQPRPTSKPPASGAAANVSTSGITPGQAAIASTTI (SEQ ID NO: 115)

25 Los Fab de presentación en ribosomas unidos con el antígeno se recuperaron usando perlas magnéticas de estreptavidina Nonolink (SoluLink, Inc.). Posteriormente, el antígeno se lavó con Tris-HCl 50 mM (pH 7,4), NaCl 150 mM, Mg(OAc)₂ 15 mM, Tween 20 al 0,05 % y ARN de levadura 1 mg/ml y con Tris-HCl 50 mM (pH 7,4), NaCl 150 mM, Mg(OAc)₂ 15 mM y Tween 20 al 0,05 %. Después, se añadió Tris-HCl 50 mM (pH 7,4), NaCl 150 mM, Mg(OAc)₂ 15 mM y EDTA 50 mM al antígeno, y la mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente durante 10 minutos, seguido de la recuperación mediante centrifugación de un sobrenadante que contenía los ARNm. Los ADNc se formaron a partir de los ARNm recuperados usando un kit de síntesis de ADNc Transcriptor High Fidelity (F. Hoffmann-La Roche, Ltd.) y después se amplificaron como ADN mediante PCR usando el conjunto de cebadores proporcionado más adelante y KOD-Plus-. Los ARNm se sintetizaron con los ADN como moldes y también se exploraron de la misma manera que anteriormente. El ciclo de exploración se llevó a cabo varias veces para seleccionar un gen de un anticuerpo que se uniese con fuerza al antígeno.

Conjunto de cebadores

35 5'-ATGGACATTCAACTGACCCAAAGC-3' (SEQ ID NO: 50; cebador Orai1-LcF)
5'-CAGATCCTCCTCAGAGATCAGCTTCTGCTC-3' (SEQ ID NO: 54; cebador Myc-R)

9)-3 Preparación de proteína Fab

40 Los genes seleccionados se subclonaron en vectores para su expresión en *E. coli* y se exploraron mediante ensayo ELISA basado en células para encontrar clones con actividad de unión mejorada contra células CHO que expresaban de manera constitutiva Orai1 humano. En primer lugar, cada ADN seleccionado se escindió con las enzimas de restricción EcoRV y XhoI y se insertó en un vector para la expresión de Fab (GeneFrontier Corp.) escindido con las mismas enzimas anteriores, que después se transfirió a *E. coli* BL21 (DE3). Los transformantes así obtenidos se cultivaron a 37 °C durante 4 a 5 horas en 150 µl de carbenicilina/glucosa al 0,1 %/2 x YT por pocillo en una placa de 96 pocillos de fondo redondo. A continuación, la placa se enfrió a 4 °C, y después, se añadió a la misma IPTG a una concentración final de 0,5 mM, seguido de cultivo con agitación durante la noche a 30 °C. A continuación, las células bacterianas se recuperaron mediante centrifugación y después se añadió a la misma un tampón de lisis (lisozima 2,5 mg/ml, DNasa I 100 U), seguido de agitación a temperatura ambiente durante 60 minutos. Posteriormente, para preparar muestras de Fab, el sobrenadante se recuperó mediante centrifugación.

9)-4 Exploración mediante ensayo ELISA basado en células

50 Las células que expresaban Orai1 humano se cultivaron en una placa de 384 pocillos hasta convertirse en una lámina confluyente. Después, la placa se lavó con un tampón de lavado (PBS(-), MgSO₄ 20 mM, FBS al 2,5 %). A continuación, las muestras de Fab se añadieron a la placa y esta se agitó durante una hora a 4 °C. Después de lavar cuatro veces con un tampón de lavado, se añadió a la misma un anticuerpo de cabra anti F(ab')₂ humano marcado con peroxidasa (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.) y la placa se agitó durante 30 minutos a 4 °C. La placa se lavó tres veces con un tampón de lavado y después se lavó tres veces con PBS(-) y MgSO₄ 20 mM. Después, se añadió a la misma, un reactivo cromogénico (tetrametilbencidina 0,4 mg/ml, acetato de sodio 200 mM (pH 3,4), solución acuosa de peróxido de hidrógeno al 0,01 %) y la placa se agitó durante 15 minutos a temperatura

ambiente. Después, se añadió a la misma, HCl 2 N, seguido de la medición de la OD₄₅₀. Se seleccionó una muestra de Fab que, en comparación con las células CHO de control, presentaba una mayor OD₄₅₀ contra las células CHO que expresaban de manera constitutiva Orai1 humano.

9)-5 Actividad de unión al antígeno del anticuerpo Fab anti Orai1 humano mediante citometría de flujo

- 5 Para evaluar la especificidad de unión de Orai1 humano, la suspensión de células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-DEST o la suspensión de células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1, preparada mediante el procedimiento mostrado en 1)-4-1, se centrifugó para eliminar el sobrenadante. Después, las células HEK293T se suspendieron mediante la adición de los clones mutados de cadena ligera LCDR60, LCDR67, LCDR83, CE151 o
- 10 PE057 o los clones mutado de cadena pesada HCDR046, HCDR047, HEP087, HEP124 o HEP237 seleccionados en 9)-4, o el Fab del anticuerpo precursor hR198_H4/I4-Fab, y se dejaron en reposo durante 30 minutos a 4°C. Las células se lavaron dos veces con PBS que contenía FBS al 5 %, después se suspendieron mediante la adición de anti IgG humana conjugada con FITC diluido 100 veces con PBS que contenía FBS al 5 % y se dejaron en reposo durante 30 minutos a 4 °C. Las células se lavaron dos veces con PBS que contenía FBS al 5 % y después se resuspendieron en PBS que contenía FBS al 5 % y yoduro de propidio 1 µg/ml, seguido de detección usando un
- 15 citómetro de flujo (FC500). Los datos se analizaron usando Flowjo. Después de retirar por selección las células muertas positivas a yoduro de propidio, la intensidad de fluorescencia de FITC de células vivas, se representó gráficamente en forma de histograma, para calcular la intensidad de fluorescencia media (IFM). Los clones mutados de cadena ligera LCDR60, LCDR67, LCDR83, CE151 y PE057 y los clones mutados de cadena pesada HCDR046, HCDR047, HEP087, HEP124 y HEP237, no se unieron a las células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-DEST,
- 20 como sucede con el Fab del anticuerpo precursor hR198_H4/I4-Fab, y, como se muestra en la figura 7, cada uno tendía a unirse a Orai1 humano en las células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1 a un nivel equivalente o más fuerte que el del Fab del anticuerpo precursor.

[Ejemplo 10] Preparación de anticuerpos de maduración por afinidad del anticuerpo humanizado anti Orai1 humano

- 25 Se prepararon 100 o más tipos de anticuerpos hR198_H3/I3 genomodificados, transfiriendo parte de las mutaciones potenciadoras de actividad descubiertas en los clones mutados de cadena ligera LCDR60, LCDR67, LCDR83, CE151 y PE057 y en los clones mutados de cadena pesada HCDR046, HCDR047, HEP087, HEP124 y HEP237, seleccionados en el Ejemplo 9), a hR198_H3/I3, y se evaluaron desde el punto de vista de la afinidad de unión, actividad *in vitro*, productividad y antigenicidad heterogénea contra seres humanos. Como resultado, se
- 30 seleccionaron los anticuerpos mostrados más adelante.

10)-1 Diseño de anticuerpos de maduración por afinidad del anticuerpo humanizado anti Orai1 humano

10)-1-1 cadena ligera de tipo hR198_LG1:

- 35 Se diseñó una cadena ligera de R198 humanizada reemplazando un resto de asparagina por uno de glicina en la posición de aminoácido 51, un resto de treonina por uno de isoleucina en la posición de aminoácido 113 y un resto de treonina por uno de serina en la posición de aminoácido 117 en cuanto a la cadena ligera de hR198_L3 mostrada en la SEQ ID NO: 35 del Listado de Secuencias, que se denominó "cadena ligera de tipo hR198_LG1".

- 40 En la SEQ ID NO: 55 del Listado de Secuencias se muestra la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_LG1. Las posiciones de nucleótidos 61 a 702 codifican una cadena ligera madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de nucleótidos 61 a 378 codifican la región variable. En la SEQ ID NO: 56 del Listado de Secuencias se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_LG1. Las posiciones de aminoácidos 21 a 234 representan la cadena ligera madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de aminoácidos 21 a 126 representan la región variable. En la Figura 30 también se muestran las secuencias de las SEQ ID NO: 55 y 56. En la Figura 38 se muestra cada una de las secuencias de CDR y su correspondiente SEQ ID NO.

- 45 10)-1-2 cadena ligera de tipo hR198_LG2:

- 50 Se diseñó una cadena ligera de R198 humanizada reemplazando un resto de arginina por uno de histidina en la posición de aminoácido 44, un resto de serina por uno de asparagina en la posición de aminoácido 48, un resto de asparagina por uno de glicina en la posición de aminoácido 51, un resto de serina por uno de leucina en la posición de aminoácido 70, un resto de ácido glutámico por uno de ácido aspártico en la posición de aminoácido 75, un resto de serina por uno de triptófano en la posición de aminoácido 76, un resto de treonina por uno de isoleucina en la posición de aminoácido 113 y un resto de treonina por uno de serina en la posición de aminoácido 117 en cuanto a la cadena ligera de hR198_L3 mostrada en la SEQ ID NO: 35 del listado de secuencias, que se denominó "cadena ligera de tipo hR198_LG2".

- 55 En la SEQ ID NO: 57 del listado de secuencias se muestra la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_LG2. Las posiciones de nucleótidos 61 a 702 codifican una cadena ligera madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de nucleótidos 61 a 378 codifican la región variable. La secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_LG2 se muestra en la SEQ ID NO: 58 del listado de secuencias. Las

posiciones de aminoácidos 21 a 234 representan la cadena ligera madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de aminoácidos 21 a 126 representan la región variable. En la Figura 31 también se muestran las secuencias de las SEQ ID NO: 57 y 58. En la Figura 38 se muestra cada una de las secuencias de CDR y su correspondiente SEQ ID NO.

5 10)-1-3 cadena ligera de tipo hR198_LG3:

Se diseñó una cadena ligera de R198 humanizada reemplazando un resto de arginina por uno de histidina en la posición de aminoácido 44, un resto de glutamina por uno de arginina en la posición de aminoácido 47, un resto de serina por uno de asparagina en la posición de aminoácido 48, un resto de asparagina por uno de glicina en la posición de aminoácido 51, un resto de serina por uno de leucina en la posición de aminoácido 70, un resto de treonina por uno de serina en la posición de aminoácido 73, un resto de ácido glutámico por uno de ácido aspártico en la posición de aminoácido 75, un resto de serina por uno de triptófano en la posición de aminoácido 76, un resto de treonina por uno de isoleucina en la posición de aminoácido 113 y un resto de treonina por uno de serina en la posición de aminoácido 117 en cuanto a la cadena ligera de hR198_L3 mostrada en la SEQ ID NO: 35 del listado de secuencias, que se denominó "cadena ligera de tipo hR198_LG3".

15 En la SEQ ID NO: 59 del listado de secuencias se muestra la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_LG3. Las posiciones de nucleótidos 61 a 702 codifican una cadena ligera madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de nucleótidos 61 a 378 codifican la región variable. La secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_LG3 se muestra en la SEQ ID NO: 60 del listado de secuencias. Las posiciones de aminoácidos 21 a 234 representan la cadena ligera madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de aminoácidos 21 a 126 representan la región variable. En la Figura 32 también se muestran las secuencias de las SEQ ID NO: 59 y 60. En la Figura 38 se muestra cada una de las secuencias de CDR y su correspondiente SEQ ID NO.

10)-1-4 cadena pesada de tipo hR198_HG1:

25 Se diseñó una cadena pesada de R198 humanizada reemplazando un resto de asparagina por uno de ácido aspártico en la posición de aminoácido 78 y un resto de valina por uno de alanina en la posición de aminoácido 123 en cuanto a la cadena pesada de hR198_H3 mostrada en la SEQ ID NO: 43 del listado de secuencias, que se denominó "cadena pesada de tipo hR198_HG1".

30 En la SEQ ID NO: 61 del listado de secuencias se muestra la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_HG1. Las posiciones de nucleótidos 58 a 1398 codifican una cadena pesada madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de nucleótidos 58 a 408 codifican la región variable. La secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_HG1 se muestra en la SEQ ID NO: 62 del listado de secuencias. Las posiciones de aminoácidos 20 a 466 representan la cadena pesada madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de aminoácidos 20 a 135 representan la región variable. En la Figura 33 también se muestran las secuencias de las SEQ ID NO: 61 y 62. En la Figura 38 se muestra cada una de las secuencias de CDR y su correspondiente SEQ ID NO.

10)-1-5 cadena pesada de tipo hR198_HG2:

40 Se diseñó una cadena pesada de R198 humanizada reemplazando un resto de valina por uno de isoleucina en la posición de aminoácido 48, un resto de asparagina por uno de ácido aspártico en la posición de aminoácido 78, un resto de alanina por uno de glicina en la posición de aminoácido 81 y un resto de valina por uno de alanina en la posición de aminoácido 123 en cuanto a la cadena pesada de hR198_H3 mostrada en la SEQ ID NO: 43 del listado de secuencias, que se denominó "cadena pesada de tipo hR198_HG2".

45 En la SEQ ID NO: 63 del listado de secuencias se muestra la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_HG2. Las posiciones de nucleótidos 58 a 1398 codifican una cadena pesada madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de nucleótidos 58 a 408 codifican la región variable. La secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_HG2 se muestra en la SEQ ID NO: 64 del listado de secuencias. Las posiciones de aminoácidos 20 a 466 representan la cadena pesada madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de aminoácidos 20 a 135 representan la región variable. En la Figura 34 también se muestran las secuencias de las SEQ ID NO: 63 y 64. En la Figura 38 se muestra cada una de las secuencias de CDR y su correspondiente SEQ ID NO.

50 10)-1-6 cadena pesada de tipo hR198_HG3:

55 Se diseñó una cadena pesada de R198 humanizada reemplazando un resto de valina por uno de isoleucina en la posición de aminoácido 48, un resto de asparagina por uno de ácido aspártico en la posición de aminoácido 78, un resto de alanina por uno de metionina en la posición de aminoácido 81 y un resto de valina por uno de alanina en la posición de aminoácido 123 en cuanto a la cadena pesada de hR198_H3 mostrada en la SEQ ID NO: 43 del listado de secuencias que se denominó "cadena pesada de tipo hR198_HG3".

En la SEQ ID NO: 65 del listado de secuencias se muestra la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena

pesada de tipo hR198_HG3. Las posiciones de nucleótidos 58 a 1398 codifican una cadena pesada madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de nucleótidos 58 a 408 codifican la región variable. La secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_HG3 se muestra en la SEQ ID NO: 66 del listado de secuencias. Las posiciones de aminoácidos 20 a 466 representan la cadena pesada madura formada por la escisión de la secuencia señal. Las posiciones de aminoácidos 20 a 135 representan la región variable. En la Figura 35 también se muestran las secuencias de las SEQ ID NO: 65 y 66. En la Figura 38 se muestra cada una de las secuencias de CDR y su correspondiente SEQ ID NO.

10)-2 Preparación de vectores de expresión del anticuerpo de maduración por afinidad del anticuerpo humanizado anti Orai1 humano

10)-2-1 Construcción del vector de expresión de cadena ligera de tipo hR198_LG1

Para reemplazar un resto de asparagina por uno de glicina en la posición de aminoácido 51, un resto de treonina por uno de isoleucina en la posición de aminoácido 113 y un resto de treonina por uno de serina en la posición de aminoácido 117, se introdujeron mutaciones con pCMA-LK / hR198_L3 como molde usando el kit de mutagénesis KOD-Plus-. El vector de expresión obtenido que comprende la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 55 del listado de secuencias se denominó "pCMA-LK/hR198_LG1".

10)-2-2 Construcción de vectores de expresión de cadena ligera de tipo hR198_LG2 y LG3

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de hR198_LG3 mostrada en las posiciones de nucleótidos 38 a 402 en la secuencia de nucleótidos de hR198_LG3 representada por la SEQ ID NO: 59 del listado de secuencias (servicio GeneArt Artificial Gene Synthesis). El fragmento de ADN sintetizado se escindió con las enzimas de restricción EcoRV y Aval y se insertó en pCMA-LK/hR198_LG1 escindido con las mismas enzimas de restricción anteriores para construir un vector de expresión hR198_LG3. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA-LK/hR198_LG3".

Para reemplazar un resto de arginina por uno de glutamina en la posición de aminoácido 47 y un resto de serina por uno de treonina en la posición de aminoácido 73, se introdujeron mutaciones con pCMA-LK/hR198_LG3 como molde usando el kit de mutagénesis KOD-Plus-. El vector de expresión obtenido que comprende la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 57 del listado de secuencias se denominó "pCMA-LK/hR198_LG2".

10)-2-3 Construcción del vector de expresión de cadena pesada de tipo hR198_HG1

Para reemplazar un resto de asparagina por uno de ácido aspártico en la posición de aminoácido 78 y un resto de valina por uno de alanina en la posición de aminoácido 123, se introdujeron mutaciones con pCMA-G1/hR198_H3 como molde usando el kit de mutagénesis KOD-Plus-. El vector de expresión obtenido que comprende la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 61 del Listado de Secuencias se denominó "pCMA-G1/hR198_HG1".

10)-2-4 Construcción del vector de expresión de cadena pesada de tipo hR198_HG2

Para reemplazar un resto de valina por uno de isoleucina en la posición de aminoácido 48 y un resto de alanina por uno de glicina en la posición de aminoácido 81, se introdujeron mutaciones con pCMA-G1/hR198_HG1 como molde, usando el kit de mutagénesis KOD-Plus-. El vector de expresión obtenido que comprendía la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 63 del Listado de Secuencias, se denominó "pCMA-G1/hR198_HG2".

10)-2-5 Construcción del vector de expresión de cadena pesada de tipo hR198_HG3

Para reemplazar un resto de glicina por uno de metionina en la posición de aminoácido 81, se introdujo una mutación pCMA-G1/hR198_HG2 como molde, usando mutagénesis KOD-Plus. El vector de expresión obtenido que comprendía la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 65 del Listado de Secuencias, se denominó "pCMA-G1/hR198_HG3".

10) -3 Preparación del anticuerpo de maduración por afinidad del anticuerpo humanizado anti Orai1 humano

Para obtener un sobrenadante de cultivo que contuviese el anticuerpo, a través del mismo procedimiento que el de 4)-5-1, células FreeStyle 293F se transfectaron con cada vector de expresión de cadena pesada de anticuerpo humanizado anti Orai1 humano y vector de expresión de cadena ligera de anticuerpo humanizado anti Orai1 humano preparados en 10)-2.

Los anticuerpos humanizados anti Orai1 humanos obtenidos mediante la combinación de los moldes pCMA-G1/hR198_H3 o pCMA-G1/hR198_HG1, pCMA-G1/hR198_HG2 o pCMA-G1/hR198_HG3 que contenían la mutación o mutaciones con pCMALK/hR198_LG1, pCMA-LK/ hR198_LG2 o pCMA-LK/hR198_LG3, se denominaron "hR198_H3 /IG1", "hR198_HG1/IG1", "hR198_HG1/IG2", "hR198_HG1/IG3", "hR198_HG2/IG1" y "hR198_HG3/IG1", respectivamente.

Para obtener una muestra de anticuerpo purificada, cada sobrenadante de cultivo obtenido se purificó mediante cromatografía de afinidad de proteína A recombinante a través del mismo procedimiento que el de 4)-5-2.

[Ejemplo 11] Actividad *in vitro* del anticuerpo de maduración por afinidad**11)-1 Evaluación de la capacidad de unión del anticuerpo de maduración por afinidad mediante citometría de flujo**

Para evaluar la especificidad de unión de Orai1 humano, la suspensión de células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-DEST o la suspensión de células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1, preparada mediante el procedimiento mostrado en 1)-4-1, se centrifugó para eliminar el sobrenadante. Después, las células HEK293T se suspendieron mediante la adición del anticuerpo de maduración por afinidad hR198_H3/Ig1, hR198_HG1/Ig1, hR198_HG1/Ig2, hR198_HG1/Ig3, hR198_HG2/Ig1 o hR198_HG3/Ig1 preparado en 10)-3 o del anticuerpo precursor hR198_H3/I3 o hR198_H4/I4, y se incubó durante 30 minutos a 4°C. Las células se lavaron dos veces con PBS que contenía FBS al 5 %, después se suspendieron mediante la adición de anti IgG humana conjugada con FITC diluido 100 veces con PBS que contenía FBS al 5 % y se incubaron durante 30 minutos a 4 °C. Las células se lavaron dos veces con PBS que contenía FBS al 5 % y después se resuspendieron en PBS que contenía FBS al 5 % y yoduro de propidio 1 µg/ml, seguido de detección usando un citómetro de flujo (FC500). Los datos se analizaron usando Flowjo. Después de excluir por selección las células muertas positivas a yoduro de propidio, la intensidad de fluorescencia FITC de las células vivas, se representó gráficamente en forma de histograma, para calcular la intensidad de fluorescencia media (IFM). Los anticuerpos de maduración por afinidad hR198_H3/Ig1, hR198_HG1/Ig1, hR198_HG1/Ig2, hR198_HG1/Ig3, hR198_HG2/Ig1 y hR198_HG3/Ig1 no se unieron a las células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-DEST, como sucede con el anticuerpo precursor hR198_H3/I3 o hR198_H4/I4, y, como se muestra en la figura 8, cada uno tendió a unirse a Orai1 humano en las células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1 a un nivel equivalente o más fuerte que el del anticuerpo precursor.

11)-2 Efecto inhibitorio de la activación de linfocitos T del anticuerpo de maduración por afinidad

Se prepararon células Jurkat de la línea de linfocitos T humanos a una concentración de $1,5 \times 10^6$ células/ml en RPMI1640 que contenía FBS al 10 %, penicilina 100 U/ml y estreptomycin 100 µg/ml, se inocularon a 80 µl/pocillo en una placa de cultivo celular de 96 pocillos y se pretrataron con los anticuerpos de maduración por afinidad hR198_H3/Ig1, hR198_HG1/Ig1, hR198_HG1/Ig2, hR198_HG1/Ig3, hR198_HG2/Ig1 o hR198_HG3/Ig1 o con el anticuerpo humanizado anti Orai1 humano hR198_H3/I3 o hR198_H4/I4, añadidos a 10 µl/pocillo a 37°C durante 60 minutos con CO₂ al 5 %. Después, se añadió PMA 100 ng/ml y A23187 1 µg/ml a 10 µl/pocillo y se agitó bien, seguido de cultivo durante aproximadamente 16 horas a 37°C con CO₂ al 5 %. La placa se agitó bien y después se centrifugó a 600 g durante 3 minutos. La concentración de IL-2 contenida en el sobrenadante se midió mediante ensayo ELISA. En la Figura 9 se muestra que cada uno de los anticuerpos de maduración por afinidad inhibe, de una manera dependiente de la concentración, la liberación de IL-2 de células Jurkat tratadas con PMA y A23187. Cada uno de los anticuerpos de maduración por afinidad inhibió la liberación de IL-2 de las células Jurkat de una manera dependiente de la concentración y todos fueron superiores en actividad inhibitoria a los anticuerpos humanizados anti Orai1 humanos hH3/I3 y hH4/I4, que eran anticuerpos precursores.

[Ejemplo 12] Preparación de formas genomodificadas con actividad efectora reducida del anticuerpo de maduración por afinidad

Se construyó una secuencia de hR198_HG1-LALA genomodificada de región constante obtenida de hR198_HG1 sustituyendo de dos restos de aminoácido en la región constante como se describe más adelante en los Ejemplos.

12)-1 Diseño de vector de expresión de cadena pesada de tipo LALA

Para eludir la citotoxicidad contra células normales que expresan Orai1 humano, es deseable que un anticuerpo tenga baja actividad efectora. Se sabe que la actividad efectora difiere entre las subclases de anticuerpos. Se observan las siguientes características, por ejemplo, la IgG4 tiene bajas actividades de ADCC y de CDC y la IgG2 tiene actividad de CDC, pero tiene baja actividad de ADCC. En función de estas características, es posible preparar un anticuerpo de IgG1 con actividades de ADCC y CDC reducidas sustituyendo parcialmente las secuencias de la región constante de IgG1 con respecto a IgG2 o IgG4. Como ejemplo, Marjan Hezareh y col., Journal of Virology, 75 (24): 12161-12168 (2001), muestran que las actividades de ADCC y CDC de IgG1 se reducen reemplazando cada uno de los restos de leucina en las posiciones 234 y 235 (las posiciones se indican son las del índice EU de Kabat y col.) de IgG1 por un resto de alanina. Por consiguiente, se diseñó una cadena pesada del anticuerpo humanizado anti Orai1 humano diseñada reemplazando un resto de leucina por uno de alanina en la posición de aminoácido 253 y un resto de leucina por uno de alanina en la posición de aminoácido 254 en cuanto a la cadena pesada de tipo hR198_HG1 preparada en el ejemplo 10)-1 que se denominó "cadena pesada de tipo hR198_HG1-LALA".

12)-2 Construcción del vector de expresión de cadena pesada de tipo LALA**12)-2-1 Construcción de vector de expresión de cadena pesada de tipo hR198_HG1-LALA**

Para construir un vector de expresión de cadena pesada de tipo hR198_H4-LALA, se introdujeron mutaciones con el pCMA-G1/hR198_H4 de cadena pesada de tipo hR198_H4 preparado en 7)-2 como molde, usando un kit de mutagénesis KOD-Plus-. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA-G1-LALA/hR198_H4". En las SEQ ID NO: 67 y 68 (Figura 36), se muestra la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_H4-LALA y la secuencia de aminoácidos de esta cadena, respectivamente, del Listado de Secuencias.

Para construir un vector de cadena pesada de tipo hR198_HG1-LALA, se obtuvo un fragmento de ADN de aproximadamente 0,6 kb que comprendía la secuencia codificante de la región variable del anticuerpo mediante la digestión de pCMA-G1/hR198_HG1 preparado en 10)-2 con las enzimas de restricción PstI y XbaI, y se insertó en un fragmento de ADN de aproximadamente 4,2 kb obtenido mediante la digestión de pCMA-G1-LALA/hR198_H4 con las mismas enzimas de restricción que antes usando Ligation High ver. 2. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA-G1-LALA/hR198_HG1". En las SEQ ID NO: 69 y 70 (Figura 37), se muestra la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_HG1-LALA y la secuencia de aminoácidos de esta cadena, respectivamente, del Listado de Secuencias.

12)-3 Preparación de formas genomodificadas con actividad efectora reducida del anticuerpo de maduración por afinidad

12)-3-1 Producción de formas genomodificadas con actividad efectora reducida del anticuerpo de maduración por afinidad

Células FreeStyle 293F (Invitrogen Corp.) se subcultivaron y cultivaron según el manual de instrucciones. En un matraz de Erlenmeyer Fernbach de 3 l (Corning Inc.), se inocularon $1,2 \times 10^9$ células 293F FreeStyle (Invitrogen Corp.) en la fase de crecimiento logarítmico, se prepararon a $1,0 \times 10^6$ células/ml por dilución con medio de expresión FreeStyle 293 (Invitrogen Corp.) y después se cultivaron agitando a 90 rpm a una temperatura de 37 °C durante 1 hora en una incubadora con CO₂ al 8 %. En 20 ml de Opti-Pro SFM (Life Technologies Corp.), se disolvieron 3,6 mg de polietilenimina (Polysciences n.º 24765). A continuación, cada vector de expresión de cadena ligera (0,8 mg) y cada vector de expresión de cadena pesada (0,4 mg) preparados usando el kit de PureLink HiPure Plasmid (Life Technologies Corp.) se añadieron a 20 ml de Opti-Pro SFM (Life Technologies Corp.). A 20 ml de la solución mixta de polietilenimina/Opti-Pro SFM, se añadieron 20 ml de la solución mixta de vector de expresión/Opti-Pro SFM y la mezcla se agitó suavemente, se dejó durante 5 minutos más y después se añadió a las células 293F FreeStyle. Las células se cultivaron con agitación a 90 rpm a 37°C durante 7 días en una incubadora con CO₂ al 8 %, y el sobrenadante de cultivo obtenido se filtró a través de un filtro de cápsula desechable (ADVANTEC n.º CCS-045-E1H). hR198_HG1/IG1 se produjo con la combinación de pCMA-G1/hR198_HG1 y pCMA-LK/hR198_LG1, y hR198_HG1-LALA/IG1 se produjo con la combinación de pCMA-G1-LALA/hR198_HG1 y pCMA-LK/hR198_LG1.

12)-3-2 Purificación en dos etapas de formas genomodificadas con actividad efectora reducida del anticuerpo de maduración por afinidad

Cada anticuerpo se purificó del sobrenadante de cultivo obtenido en el ejemplo 12)-3-1 en dos etapas, usando cromatografía de afinidad de proteína A recombinante (de 4 a 6 °C) e hidroxiapatita cerámica (a temperatura ambiente). La etapa de sustitución del tampón después de la purificación por cromatografía de afinidad de proteína A recombinante y después de la purificación mediante hidroxiapatita cerámica, se llevó a cabo a una temperatura de 4 a 6 °C. El sobrenadante de cultivo se aplicó a MabSelectSuRe (GE Healthcare Bio-Sciences Corp., columna HiTrap) equilibrado con PBS. Después de introducir todo el sobrenadante de cultivo en la columna, la columna se lavó con PBS 2 o más veces en el volumen de la columna. A continuación, las fracciones que contenían el anticuerpo se recogieron por elución con una solución de clorhidrato de arginina 2 M (pH 4,0). Los tampones de las fracciones se reemplazaron por PBS mediante diálisis (Thermo Fisher Scientific Inc., casete de diálisis Slide-A-Lyzer) y después se diluyeron 5 veces con un tampón de fosfato de sodio 5 mM/MES 50 mM (pH 7,0). La solución de anticuerpo resultante se aplicó a una columna de hidroxiapatita cerámica (BioRad Laboratories, Inc., Columna de hidroxiapatita Bio-Scale CHT tipo 1) equilibrada con un tampón de NaPi 5 mM/MES 50 mM/NaCl 30 mM (pH 7,0). Las fracciones que contenían el anticuerpo se recogieron con cloruro de sodio mediante elución en gradiente de concentración lineal. Los tampones de las fracciones se reemplazaron por HBSor (histidina 25 mM/sorbitol al 5 %, pH 6,0) mediante diálisis (Thermo Fisher Scientific Inc., casete de diálisis Slide-A-Lyzer). La solución se concentró y a una concentración de IgG de 5 mg/ml o mayor usando el dispositivo de filtro UF centrífugo VIVASPIN 20 (límite de peso molecular: UF10K, Sartorius Japan K.K., 4 °C). Finalmente, la solución de anticuerpo se filtró a través de un filtro Minisart-Plus (Sartorius Japan K.K.) y se usó como muestra purificada.

[Ejemplo 13] Preparación de vectores de expresión de los anticuerpos humanos anti Orai1 humanos 2C1.1 y 5H3.1

Los anticuerpos 2C1.1 y 5H3.1 se prepararon basándose en las secuencias de aminoácidos de las cadenas ligeras y pesadas descritas en el documento WO2011063277A1.

13)-1 Construcción del vector de expresión de cadena pesada de tipo IgG2 quimerizada y humanizada, pCMA-G2

Un fragmento de ADN obtenido mediante la digestión de pCMA-LK con XbaI y PmeI para eliminar la secuencia que codifica una señal de secreción de la cadena k y una región constante de la cadena k humana, se ligó con un fragmento de ADN (que se muestra en SEQ ID NO: 71 de la lista de secuencias) que comprende una secuencia que codifica una señal de secreción de cadena pesada humana y aminoácidos de una región constante de IgG2 humana usando el kit de clonación por PCR In-Fusion Advantage para construir un vector de expresión de cadena pesada de tipo IgG2 quimérico y humanizado pCMA-G2 que tiene una secuencia señal, un sitio de clonación, y la secuencia codificante la de región constante de la cadena pesada de IgG2 humana corriente abajo de un promotor de CMV.

13)-2 Construcción del vector de expresión de cadena pesada del anticuerpo 2C1.1

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 2C1.1 mostrada en las posiciones de nucleótidos 36 a 434 en la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada del anticuerpo 2C1.1 representada por la SEQ ID NO: 72 del listado de secuencias (servicio GeneArt Artificial Gene Synthesis). El fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 2C1.1 se amplificó con el fragmento de ADN sintetizado como molde usando KOD -Plus- y se insertó en el sitio correspondiente del vector de expresión de cadena pesada de tipo IgG2 quimérico y humanizado pCMA- G2 escindido con una enzima de restricción BlnI usando un kit de clonación por PCR In-Fusion HD para construir un vector de expresión de cadena pesada del anticuerpo 2C1.1. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA-G2/2C1.1".

En la SEQ ID NO: 73 del Listado de Secuencias, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 2C1.1.

13)-3 Construcción del vector de expresión de cadena ligera del anticuerpo 2C1.1

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía las secuencias codificantes de la región variable y la región constante (cadena λ) de la cadena ligera del anticuerpo 2C1.1 mostradas en las posiciones de nucleótidos 38 a 739 en la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera del anticuerpo 2C1.1 representada por la SEC ID NO: 74 del Listado de Secuencias (servicio GeneArt Artificial Gene Synthesis). Para construir un vector de expresión de cadena ligera del anticuerpo 2C1.1, el fragmento de ADN que comprendía las secuencias codificantes de la región variable y constante de la cadena ligera del anticuerpo 2C1.1, se amplificó con el fragmento de ADN sintetizado como molde usando KOD -Plus- y se insertó en el sitio correspondiente del vector de expresión de cadena ligera del anticuerpo quimérico y humanizado pCMA-LK escindido con las enzimas de restricción BsiWI y PmeI usando un kit de clonación por PCR In-Fusion HD. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA-LK/2C1.1".

En la SEQ ID NO: 75 del Listado de Secuencias, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 2C1.1.

13)-4 Construcción del vector de expresión de cadena pesada del anticuerpo 5H3.1

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 5H3.1 mostrada en las posiciones de nucleótidos 36 a 434 en la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada del anticuerpo 5H3.1 representada por la SEQ ID NO: 76 del listado de secuencias (servicio GeneArt Artificial Gene Synthesis). Se construyó un vector de expresión de cadena pesada del anticuerpo 5H3.1 mediante el mismo procedimiento que el del Ejemplo 13)-2. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA-G2/5H3.1".

En la SEQ ID NO: 77 del Listado de Secuencias, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 5H3.1.

13)-5 Construcción del vector de expresión de cadena ligera del anticuerpo 5H3.1

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía las secuencias codificantes de la región variable y la región constante del anticuerpo 5H3.1 mostradas en las posiciones de nucleótidos 38 a 742 en la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera del anticuerpo 5H3.1 representada por la SEQ ID NO: 78 del listado de secuencias (servicio GeneArt Artificial Gene Synthesis). Se construyó un vector de expresión de cadena ligera del anticuerpo 5H3.1 mediante el mismo procedimiento que el del Ejemplo 13)-3. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA-L/5H3.1".

En la SEQ ID NO: 79 del Listado de Secuencias, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 5H3.1.

13)-6 Preparación de los anticuerpos 2C1.1 y 5H3.1

13)-6-1 Producción de los anticuerpos 2C1.1 y 5H3.1

Cada anticuerpo se produjo mediante el mismo procedimiento que el del Ejemplo 12)-3-1. El anticuerpo 2C1.1 se produjo mediante la combinación de pCMA-G2/2C1.1 y pCMA-L/2C1.1, y el anticuerpo 5H3.1 se produjo mediante la combinación de pCMA-G2/5H3.1 y pCMA-L/5H3.1.

13)-6-2 Purificación en dos etapas de los anticuerpos 2C1.1 y 5H3.1

Cada anticuerpo se purificó en dos etapas mediante el mismo procedimiento que el del Ejemplo 12)-3-2 a partir del sobrenadante de cultivo producido en el Ejemplo 13)-6-1.

[Ejemplo 14] Preparación de los anticuerpos de ratón anti Orai1 humano 10F8, 14F74 y 17F6

Los anticuerpos 10F8, 14F74 y 17F6, se prepararon basándose en las secuencias de aminoácidos de las cadenas ligeras y pesadas descritas en el documento WO2013091903A1.

14)-1 Construcción del vector de expresión de cadena pesada del anticuerpo 10F8

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada del anticuerpo 10F8 representada por la SEQ ID NO: 80 del listado de secuencias (servicio GeneArt Artificial Gene Synthesis). El fragmento de ADN que comprendía la secuencia codificante de la cadena pesada del anticuerpo 10F8, se amplificó con el fragmento de ADN sintetizado como molde usando KOD-Plus- y se insertó en el sitio del que se eliminó la secuencia codificante de una señal de secreción de la cadena k y una región constante de la cadena k humana mediante la digestión del vector de expresión de la cadena ligera del anticuerpo quimérico y humanizado pCMA-LK con las enzimas de restricción XbaI y PmeI, usando un kit de clonación por PCR In-Fusion HD para construir un vector de expresión de cadena pesada del anticuerpo 10F8. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA/10F8H".

En la SEQ ID NO: 81 del Listado de Secuencias, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 10F8.

14)-2 Construcción del vector de expresión de cadena ligera del anticuerpo 10F8

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera del anticuerpo 10F8 representada por la SEQ ID NO: 82 del Listado de Secuencias (GeneArt Strings DNA Fragments). El fragmento de ADN sintetizado se insertó en el sitio del que se eliminó la secuencia codificante de una señal de secreción de la cadena k y una región constante de la cadena k humana mediante la digestión del vector de expresión de la cadena ligera del anticuerpo quimérico y humanizado pCMA-LK con las enzimas de restricción XbaI y PmeI, usando un kit de clonación por PCR In-Fusion HD para construir un vector de expresión de cadena ligera del anticuerpo 10F8. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA/10F8L".

En la SEQ ID NO: 83 del Listado de Secuencias, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 10F8.

14)-3 Construcción del vector de expresión de cadena pesada del anticuerpo 14F74

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada del anticuerpo 14F74 representada por la SEQ ID NO: 84 del listado de secuencias (servicio GeneArt Artificial Gene Synthesis). Se construyó un vector de expresión de cadena pesada del anticuerpo 14F74 mediante el mismo procedimiento que el del Ejemplo 14)-1. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA/14F74H".

En la SEQ ID NO: 85 del Listado de Secuencias, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 14F74.

14)-4 Construcción del vector de expresión de cadena ligera del anticuerpo 14F74

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia de nucleótidos que codificaba la cadena ligera del anticuerpo 14F74 representada por la SEQ ID NO: 86 del Listado de Secuencias (Fragmentos de ADN GeneArt Strings). Se construyó un vector de expresión de cadena ligera del anticuerpo 14F74 mediante el mismo procedimiento que el del Ejemplo 14)-2. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA/14F74L".

En la SEQ ID NO: 87 del Listado de Secuencias, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 14F74.

14)-5 Construcción del vector de expresión de cadena pesada del anticuerpo 17F6

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada del anticuerpo 17F6 representada por la SEQ ID NO: 88 del listado de secuencias (servicio GeneArt Artificial Gene Synthesis). Se construyó un vector de expresión de cadena pesada del anticuerpo 17F6 mediante el mismo procedimiento que el del Ejemplo 14)-1. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA/17F6H".

En la SEQ ID NO: 89 del Listado de Secuencias, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 17F6.

14)-6 Construcción del vector de expresión de cadena ligera del anticuerpo 17F6

Se sintetizó un fragmento de ADN que comprendía la secuencia de nucleótidos que codificaba la cadena ligera del anticuerpo 17F6 representada por la SEQ ID NO: 90 del Listado de Secuencias (Fragmentos de ADN GeneArt Strings). Se construyó un vector de expresión de cadena ligera del anticuerpo 17F6 mediante el mismo procedimiento que el del Ejemplo 14)-2. El vector de expresión obtenido se denominó "pCMA/17F6L".

En la SEQ ID NO: 91 del Listado de Secuencias, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del

anticuerpo 17F6.

14)-7 Preparación de los anticuerpos 10F8, 14F74 y 17F6

14)-7-1 Producción de los anticuerpos 10F8, 14F74 y 17F6

5 Cada anticuerpo se produjo mediante el mismo procedimiento que el del Ejemplo 12)-3-1. El anticuerpo 10F8 se produjo mediante la combinación de pCMA/10F8H y pCMA/10F8L. El anticuerpo 14F74 se produjo mediante la combinación de pCMA/14F74H y pCMA/14F74L. El anticuerpo 17F6 se produjo mediante la combinación de pCMA/17F6H y pCMA/17F6L.

14)-7-2 Purificación en dos etapas de los anticuerpos 10F8, 14F74 y 17F6

10 Cada anticuerpo se purificó en dos etapas mediante el mismo procedimiento que el del Ejemplo 12)-3-2 a partir del sobrenadante de cultivo obtenido en el Ejemplo 14)-7-1.

[Ejemplo 15] Comparación *in vitro* de la actividad de formas genomodificadas con actividad efectora reducida del anticuerpo de maduración por afinidad con otros anticuerpos Orai1 humanos

15)-1 Actividad de unión al antígeno del anticuerpo anti Orai1 humano por citometría de flujo

15 Se centrifugó una suspensión celular de células HEK293T transfectadas mediante el procedimiento mostrado en 1)-4-2 con cada vector de expresión de Orai1 humano construido en 1)-1-1 para eliminar un sobrenadante. Después, las células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1 o las células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-DEST, se suspendieron mediante la adición de hR198_HG1/IG1 o hR198_HG1/IG1-LALA preparado en el ejemplo 12)-3, 2C1.1 o 5H3.1 preparados en el ejemplo 13)-6, 10F8, 14F74 o 17F6 preparados en el ejemplo 14)-7, o de un anticuerpo de control de IgG humana o de un anticuerpo de control de IgG de ratón como control, y se incubó a 4°C durante 30 minutos. Las células se lavaron dos veces con PBS que contenía FBS al 5 %, después se suspendieron mediante la adición de anti IgG humana conjugada con FITC diluido 100 veces con PBS que contenía FBS al 5 % para los anticuerpos humanos o de anti IgG de ratón conjugada con FITC (Cappel Laboratories, Inc.) para los anticuerpos de ratón y se incubaron durante 30 minutos a 4 °C. Las células se lavaron dos veces con PBS que contenía FBS al 5 % y después se resuspendieron en PBS que contenía FBS al 5 % y yoduro de propidio 1 µg/ml, seguido de detección usando un citómetro de flujo (FC500). Los datos se analizaron usando Flowjo. Después de excluir por selección las células muertas positivas a yoduro de propidio, la intensidad de fluorescencia de FITC de células vivas, se representó en un gráficamente en forma de histograma, para calcular la intensidad de fluorescencia media (IFM). hR198_HG1/IG1, hR198_HG1-LALA/IG1, 2C1.1, 5H3.1, 10F8, 14F74 y 17F6 no se unieron a las células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-DEST y, como se muestra en la Figura 10 (anticuerpos de ratón) y en la Figura 11 (anticuerpos humanos), cada uno de ellos se unió a las células HEK293T transfectadas con pcDNA3.1-hOrai1, demostrando que todos estos anticuerpos se unen específicamente a Orai1 humano. Por otro lado, no se observó dicha unión en el anticuerpo de control de IgG de ratón.

15)-2 Efecto inhibidor de la activación de la línea de linfocitos T humanos del anticuerpo anti Orai1 humano

35 Se prepararon células Jurkat de la línea de linfocitos T humanos a una concentración de $1,5 \times 10^6$ células/ml en RPMI1640 (que contenía FBS al 10 %, penicilina 100 U/ml y estreptomycin 100 µg/ml), se inocularon a 80 µl/pocillo en una placa de cultivo celular de 96 pocillos y se pretrataron con hR198_HG1/IG1, hR198_HG1-LALA/IG1, 2C1.1, 5H3.1, 10F8, 14F74 o 17F6 añadidos a 10 µl/pocillo a 37°C durante 60 minutos con CO₂ al 5 %. Después, se añadió PMA 100 ng/ml y A23187 1 µg/ml a 10 µl/pocillo (concentración final: PMA 10 ng/ml y A23187 100 ng/ml) y se agitó bien, seguido de cultivo durante aproximadamente 16 horas a 37°C con CO₂ al 5 %. La placa se agitó bien y después se centrifugó a 600 g durante 3 minutos. La concentración de IL-2 contenida en el sobrenadante se midió mediante ensayo ELISA. La Figura 12 muestra que cada uno de los anticuerpos anti Orai1 humanos inhibe, de una manera dependiente de la concentración, la liberación de IL-2 de células Jurkat tratadas con PMA y A23187. En la Figura 13 se muestran las concentraciones inhibitoras semimáximas (del 50 %) (CI₅₀) y las concentraciones inhibitoras del 80 % (CI₈₀) de hR198_HG1/IG1, hR198_HG1-LALA/IG1, 2C1.1, 5H3.1, 10F8, 14F74 y 17F6 con la concentración de IL-2 en ausencia del anticuerpo definida como 100 %. El valor de CI₅₀ de los anticuerpos de las técnicas anteriores fue de 80 ng/ml o superior, mientras que el valor de CI₅₀ de los anticuerpos típicos de la presente invención fue de 10 ng/ml o inferior. El valor de CI₈₀ de los anticuerpos de las técnicas anteriores fue de 60 000 ng/ml o superior, mientras que el valor de CI₈₀ de los anticuerpos típicos de la presente invención fue de 200 ng/ml o inferior.

50 15)-3 Efectos inhibidores de la activación de células mononucleares de sangre periférica humana de formas genomodificadas con actividad efectora reducida del anticuerpo de maduración por afinidad y otros anticuerpos anti Orai1 humanos

55 Las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) humana se adquirieron en Cellular Technology Ltd. como un producto congelado y se usaron después de descongelarlas según el manual de instrucciones. CMSP preparadas a una concentración de $2,0 \times 10^6$ células/ml en RPMI1640 que contenía FBS al 10 %, penicilina 100 U/ml y estreptomycin 100 µg/ml, se inocularon a 80 µl/pocillo en una placa de cultivo celular de 96 pocillos y se pretrataron

con cada uno de los anticuerpos anti Orai1 humanos añadidos a 10 µl/pocillo durante 60 minutos en una incubadora a 37 °C. Después, se añadió PMA 100 ng/ml y A23187 1 µg/ml a 10 µl/pocillo y se agitó bien, seguido de cultivo durante aproximadamente 16 horas a 37°C con CO₂ al 5 %. La placa se agitó bien y después se centrifugó a 600 g durante 3 minutos. Las concentraciones de IL-2 y de interferón gamma (IFN-γ) (Mabtech AB) contenidas en el sobrenadante, se midieron mediante ensayo ELISA. En la Figura 51 se muestra que cada uno de los anticuerpos anti Orai1 humano inhibe, de una manera dependiente de la concentración, la liberación de IL-2 de CMSP humana tratadas con PMA y A23187. En la Figura 52 se muestran las concentraciones inhibitoras semimáximas (del 50 %) (Cl₅₀) y las concentraciones inhibitoras del 80 % (Cl₈₀) de hR198_HG1/IG1, hR198_HG1-LALA/IG1, 2C1.1, 5H3.1, 10F8, 14F74 y 17F6 con la concentración de IL-2 en ausencia del anticuerpo definida como 100 %. El valor de Cl₅₀ de los anticuerpos de las técnicas anteriores fue de 100 ng/ml o superior, mientras que el valor de Cl₅₀ de los anticuerpos típicos de la presente invención fue de 20 ng/ml o inferior. El valor de Cl₈₀ de los anticuerpos de las técnicas anteriores fue de 17 000 ng/ml o superior, mientras que el valor de Cl₈₀ de los anticuerpos típicos de la presente invención fue de 400 ng/ml o inferior. La Figura 53 muestra que cada uno de los anticuerpos anti Orai1 humanos inhibe, de una manera dependiente de la concentración, la liberación de IFN-γ de CMSP humana tratadas con PMA y A23187. En la Figura 54 se muestran las concentraciones inhibitoras semimáximas (del 50 %) (Cl₅₀) y las concentraciones inhibitoras del 80 % (Cl₈₀) de hR198_HG1/IG1, hR198_HG1-LALA/IG1, 2C1.1, 5H3.1, 10F8, 14F74 y 17F6, definiéndose la concentración de IFN-γ en ausencia del anticuerpo como del 100 %. El valor de Cl₅₀ de los anticuerpos de las técnicas anteriores fue de 800 ng/ml o superior, mientras que el valor de Cl₅₀ de los anticuerpos típicos de la presente invención fue de 40 ng/ml o inferior. El valor de Cl₈₀ de los anticuerpos de las técnicas anteriores fue de 300 000 ng/ml o superior, mientras que el valor de Cl₈₀ de los anticuerpos típicos de la presente invención fue de 2000 ng/ml o inferior.

[Ejemplo 16] Actividad *in vivo* de hR198_HG1/IG1

16)-1 Efecto de la administración de hR198_HG1/IG1 en el modelo de ratón de enfermedad de injerto contra huésped trasplantado con CMNSP humana

Se sabe que el trasplante de CMSP humana a ratones NSG (*NOD.Cg-Prkdc^{scid}12rg^{tm1wjl}/SzJ*), que son ratones con inmunodeficiencia combinada grave (Clinical and Experimental Immunology, 157: 104-118 (2009), puede inducir una reacción similar a la enfermedad de injerto contra huésped en seres humanos. Diecisiete (17) ratones NSG macho, de seis semanas de vida, adquiridos en Charles River Laboratories Japan Inc., se irradiaron con rayos X de 2.0 Gy (equipo de irradiación de rayos X de Hitachi MBR-1520R-4). Después, los ratones se dividieron en 1 grupo con dos ratones y en 3 grupos con 5 ratones cada uno. hR198_HG1/IG1, preparado a 3 mg/ml y 6 mg/ml con HBSor (histidina 25 mM/sorbitol al 5 %, pH 6,0), se administró por vía intravenosa a 10 ml/kg, es decir, 30 mg/kg y 60 mg/kg, a través de la cola de los ratones de 2 grupos (n = 5). Como grupo de vehículo sólo se administró HBSor a un 1 grupo adicional (n = 5). Al día siguiente, se descongelaron CMSP humana congeladas (Cellular Technology Ltd.) usando antiagregante CTL (Cellular Technology Ltd.) de acuerdo con el protocolo, y 3 000 000 de células de CMSP humana se suspendieron en 200 µl de PBS y se trasplantaron a los ratones de los 3 grupos (n = 5), mientras que las CMSP humana no se trasplantaron al grupo 1 (n = 2), que se observó a lo largo del tiempo como un grupo de control irradiado con rayos X. Después de 0, 7, 14 y 21 días de la irradiación de rayos X, se administró hR198_HG1/IG1 o HBSor a la misma dosis que antes a los grupos de administración. El peso corporal de cada ratón se midió los días 0, 1, 4, 7, 9, 10, 11 y 13 y posteriormente todos los días. El cambio en el peso corporal se calculó en términos porcentuales, definiéndose el peso corporal el día 0 como 100 %. El cambio en el peso corporal promedio de cada grupo se muestra en la Figura 55. Desde aproximadamente el día 16, comenzó a observarse una disminución del peso corporal promedio del grupo de administración de vehículo. El experimento finalizó el día 21 cuando el peso corporal promedio del grupo de administración de vehículo cayó por debajo del 80 %. En este punto temporal, el grupo de control irradiado con rayos X que no había recibido las CMSP humana no mostró pérdida de peso. Los ratones que recibieron hR198_HG1/IG1 a una dosis de 30 mg/kg y 60 mg/kg, no perdieron su peso corporal, y el peso corporal promedio fue equivalente al de los ratones no trasplantados con CMSP humana. Se espera que el hR198_HG1/IG1 (anticuerpo anti Orai1) que suprimió notablemente los síntomas de la enfermedad de injerto contra huésped causada por la activación de CMSP humana en este sistema, tenga un efecto terapéutico y/o profiláctico sobre la enfermedad de injerto contra huésped en seres humanos.

16)-2 Evaluación de la actividad *in vivo* de hR198_HG1/IG1 usando un ratón con inserción (*knock-in*) del gen Orai1 humano

16)-2-1 Preparación de un ratón con inserción (*knock-in*) del gen Orai1 humano

Se prepararon ratones con inserción del gen Orai1 humano en los que la secuencia de aminoácidos del dominio de bucle extracelular de Orai1 de ratón se reemplazó por una secuencia de Orai1 humano, en el Institute of Immunology Co., Ltd. según un procedimiento estándar de preparación de ratones genomodificados. Resumiendo, se construyó un vector de direccionamiento por inserción del gen Orai1 humano reemplazando la secuencia de ADN de un clon BAC que codifica la región que comprende el locus del gen Orai1 de ratón, por el locus del gen Orai1 humano e introduciendo en el mismo un gen de resistencia a neomicina flanqueado por secuencias loxP. Con este vector de direccionamiento, se transfectaron células madre embrionarias (ES) de ratón para establecer una línea resistente a G418. Una línea de células ES, que tiene el locus del gen diana específicamente recombinado, se exploró mediante hibridación Southern. El marcador de selección se eliminó mediante transfección con un vector de expresión de Cre,

y la línea de células ES resultante se usó para preparar ratones F1 quiméricos. El genotipado se llevó a cabo mediante hibridación Southern para seleccionar individuos mutantes heterocigotos de entre los ratones F1. Los individuos mutantes heterocigotos F1 seleccionados se aparearon para preparar ratones con inserción del gen Orai1 humano como mutantes homocigotos F2.

5 16)-2-2 Efecto supresor de la reacción de anafilaxia cutánea pasiva (ACP) de hR198_HG1/IG1

La reacción de ACP en ratón se llevó a cabo según un procedimiento estándar. Ratones de ocho semanas de vida, con inserción del gen Orai1 humano, producidos por el Institute of Immunology Co., Ltd., o ratones de camada de tipo silvestre, se retuvieron en posicionadores. Después, el anticuerpo hR198_HG1/IG1 preparado a 6 mg/ml con HBSor, se administró por vía intravenosa a una dosis de 10 ml/kg, es decir, 60 mg/kg, a través de la cola de los ratones. Solo se administró HBSor a un grupo de vehículo. Al día siguiente, se administraron 10 µl de anticuerpo monoclonal anti-IgE OVA (Chondrex, Inc.) ajustados a 10 µg/ml con solución salina fisiológica, por vía intracutánea en el pabellón auricular de cada ratón con anestesia por inhalación usando isoflurano (Pfizer Japan Inc.). Después de 24 horas, a través de la cola, se administró por vía intravenosa, solución salina fisiológica que contenía 2 mg/ml de OVA (albúmina de la clara de huevo de gallina, Sigma-Aldrich Corp.) y 20 mg/ml de azul de Evans (Merck KGaA) a 5 mg/kg de OVA y 100 mg/kg de azul de Evans. Después de 30 minutos, cada ratón se sacrificó mediante flebotomía con anestesia profunda usando isoflurano, y el pabellón auricular de los ratones se extrajo y se sumergió en 0,5 ml de DMSO, seguido de la extracción de azul de Evans (37 °C, 72 horas). La solución de DMSO que contenía el azul de Evans extraído, se transfirió a 200 µl/pocillo a una microplaca de 96 pocillos, y con un lector de microplacas (Molecular Devices Corp., SpectraMax M5e), se midió la DO a 650 nm. La absorbancia del azul de Evans extravasado se determinó de acuerdo con un procedimiento de cálculo proporcionado a continuación y se indica con el valor promedio del grupo de administración de vehículo definido como 100 %. La absorbancia de una solución de DMSO se determinó como un blanco. $\% = (\text{DO}_{650} \text{ de la muestra} - \text{DO}_{650} \text{ del blanco}) / (\text{DO}_{650} \text{ del vehículo} - \text{DO}_{650} \text{ del blanco})$. La Figura 56 muestra que hR198_HG1/IG1 suprime la reacción de ACP inducida en ratones con inserción del gen Orai1 humano. La reacción de ACP en ratón es un sistema modelo básico de alergia de tipo inmediato que reproduce anafilaxia, que es una reacción alérgica de tipo I en seres humanos, y se sabe que este sistema se puede usar en la evaluación de fármacos antialérgicos (Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie, 165: 92-102 (1967); e International archives of allergy and applied immunology, 78: 113-117 (1985)). Se espera que el hR198_HG1/IG1 (anticuerpo anti Orai1), cuya actividad inhibidora contra la desgranulación de mastocitos dependiente de IgE se ha confirmado en este sistema, tenga un efecto terapéutico y/o profiláctico en el asma bronquial, la rinitis alérgica y la dermatitis atópica que se encuentran en los inhibidores de la desgranulación de mastocitos existentes y en enfermedades alérgicas de tipo I similares en seres humanos, por ejemplo, el asma alérgico.

16)-2-3 Efecto supresor de la reacción de hipersensibilidad retardada (HSR) de hR198_HG1/IG1

La reacción de HSR en ratón se llevó a cabo según un procedimiento estándar. Ratones de ocho semanas de vida, con inserción del gen Orai1 humano, producidos por el Institute of Immunology Co., Ltd., o ratones de camada de tipo silvestre, se retuvieron en posicionadores. Después, el anticuerpo hR198_HG1/IG1, preparado a 6 mg/ml con HBSor, se administró por vía intravenosa a una dosis de 10 ml/kg, es decir, 60 mg/kg, a través de la cola de los ratones. Solo se administró HBSor a un grupo de vehículo. Al día siguiente, para la inmunización, en cada una de las axilas de los ratones, se administraron 50 µl de una emulsión preparada mezclando mBSA (Albúmina Bovina Metilada, Sigma-Aldrich Corp.) diluida en 5 mg/ml con solución salina fisiológica y un adyuvante completo de Freund (Difco Laboratories) en las mismas cantidades. Después de 6 días, a través de la cola se administró nuevamente hR198_HG1/IG1 por vía intravenosa a una dosis de 60 mg/kg. Al día siguiente, cada una de la mBSA preparada a 0,5 mg/ml con solución salina fisiológica, y solución salina fisiológica, se administraron por vía intracutánea en la parte inferior de la pata con anestesia mediante inhalación de isoflurano. Después de 6, 24 y 48 horas de la administración, la hinchazón de la pata se midió con un calibrador. El cambio dependiente del tiempo en el grosor de la hinchazón de la pata, se calculó siendo el valor de 0 hinchazón a las 0 horas (10^{-2} mm) y se determinó definiéndose el valor promedio del grupo de administración de vehículo como 100 %. La Figura 57 muestra que hR198_HG1/IG1 suprimió la reacción de HSR inducida en los ratones con inserción del gen Orai1 humano, en cada punto temporal después de 6 horas (A), 24 horas (B) y 48 horas (C) de la administración del antígeno. La reacción de HSR en ratón es un sistema para observar el establecimiento y la respuesta de la inmunización dependiente de linfocitos T, y es bien sabido que un fármaco que presenta actividad en este sistema, se desarrolló como un fuerte inmunosupresor (Clinical and Experimental Immunology, 52: 599-606 (1983)). Se espera que el anticuerpo hR198_HG1/IG1 (anticuerpo anti Orai1), cuya actividad supresora contra la inmunización de linfocitos T se ha confirmado en este sistema, tenga un efecto terapéutico y/o profiláctico sobre las respuestas del organismo o las enfermedades causadas por la actividad de los linfocitos T en seres humanos, por ejemplo, rechazos de trasplantes, enfermedades inmunitarias y enfermedades inflamatorias.

16)-2-4 Estudio sobre la actividad supresora del anticuerpo anti Orai1 contra la dermatitis

La dermatitis es inducida por cualquiera de los siguientes procedimientos: por vía intraperitoneal, se administran 0,5 ml de una solución de antígeno de albúmina a un ratón, y al cabo de 2 semanas, como refuerzo se le inyecta la misma cantidad que la anterior de antígeno. Después, la solución de antígeno de albúmina se aplica reiteradamente en la oreja (20 µl) o en el lomo (100 µl) entre 3 a 6 veces a intervalos de 3 días a 2 semanas. Como alternativa, una

crema de antígenos de ácaros, se aplica reiteradamente en la oreja (20 µl) o en el lomo (100 µl) de 3 a 6 veces a intervalos de 3 días a 2 semanas. Se prepara un hapteno de cloruro de picrilo o de dinitrofluorobenceno de acuerdo con el protocolo y se aplica en la oreja (20 µl) o en el lomo (100 µl) una o dos veces por semana durante 8 semanas como máximo. Como alternativa, se administra una sustancia inductora de reacciones cutáneas, la histamina, Compuesto 40/80, éster succinimidílico de diacetato de 5 (y 6) carboxifluoresceína, isotiocianato de fluoresceína o péptido similar a bombesina, en la oreja (20 µl), en el lomo (100 µl) o en la médula espinal (5 µl). El anticuerpo anti Orai1 se administra por vía intravenosa o subcutánea un día antes de la inducción de la dermatitis o entre 1 y 4 horas antes de la inducción de la dermatitis. Después, la frecuencia de administración se establece a intervalos de 7 a 28 días para continuar la administración de anticuerpos. Después de la inducción de la dermatitis, la medición del grosor del pabellón auricular usando un calibrador de esfera para medir grosores o la puntuación macroscópica de la dermatitis, se realiza a lo largo del tiempo. Una vez finalizado el período de ensayo, para determinar la actividad supresora del anticuerpo anti Orai1 contra la dermatitis, se lleva a cabo la cuantificación de las concentraciones del anticuerpo, las citocinas o los biomarcadores séricos en la sangre o los tejidos, el examen de la actividad de crecimiento, la capacidad de producción de citocinas, antígenos de superficie, o similares de las células obtenidas de la piel, la sangre periférica, el timo, el bazo, los ganglios linfáticos o la médula ósea, el análisis histopatológico, etc.

16)-2-5 Estudio sobre la actividad supresora del anticuerpo anti Orai1 contra la psoriasis

En el caso de usar imiquimod, la dermatitis psoriásica se induce aplicándolo en los dos lados o en un lado del pabellón auricular (5 a 30 mg) y en el lomo rasurado (50 a 100 mg). Como alternativa, la dermatitis se induce mediante la administración intraperitoneal de 200 µl de una suspensión de cimosano de 10 mg/ml en una solución de tampón fosfato. En el caso de usar una citocina (IL-23, etc.) como sustancia profiláctica, la dermatitis psoriásica se induce mediante la administración intracutánea de 20 a 50 µl de una solución que contenga de 0,1 a 2 µg de la citocina en un lado del pabellón auricular del ratón con anestesia profunda usando isoflurano del 1 al 5 %. El anticuerpo anti Orai1 se administra por vía intravenosa o subcutánea un día antes de la inducción de la dermatitis o entre 1 y 4 horas antes de la inducción de la dermatitis. Después, la frecuencia de administración se establece a intervalos de 7 a 28 días para continuar la administración de anticuerpos. Después de la inducción de la dermatitis, la medición del grosor del pabellón auricular usando un calibrador de esfera para medir grosores o la puntuación macroscópica de la dermatitis, se realiza a lo largo del tiempo. Una vez finalizado el período de ensayo, el examen del peso de un lugar de inflamación, la actividad mieloperoxidasa de los neutrófilos infiltrados en el lugar, el análisis de citometría de flujo de las células infiltradas, el análisis de genes, la medición de la concentración de citocinas, etc., se llevan a cabo para determinar la actividad supresora del anticuerpo anti Orai1 contra la psoriasis.

16)-2-6 Estudio sobre la actividad supresora del anticuerpo anti Orai1 contra la esclerosis múltiple

La glucoproteína oligodendrocítica de mielina o un antígeno peptídico de la misma, se ajusta a 4 mg/ml con solución salina fisiológica y se emulsiona mezclando con adyuvante completo de Freund ajustado a 8 mg/ml con solución salina fisiológica, en las mismas cantidades. Por vía intracutánea, 200 µl de esta solución mixta, se administra en el costado o en la región abdominal de un ratón. Inmediatamente después, a este ratón se le administran 100 µl de una solución acuosa de toxina tosferínica de 2 µg/ml a través de la vena de la cola. Después de 2 días, la solución de toxina tosferínica mencionada anteriormente, se administra de nuevo a través de la vena de la cola para inducir encefalomiелitis experimental. Después de 1 a 2 semanas en el experimento, se desarrolla la encefalomiелitis y la parálisis se expande desde la cola hasta la parte inferior de las patas y las extremidades anteriores. El grado de esta parálisis se puntúa observando macroscópicamente el movimiento de las extremidades y la cola. El anticuerpo anti Orai1 se administra por vía intravenosa o subcutánea un día antes de la inducción de la encefalomiелitis o de 1 a 4 horas antes de la inducción de la encefalomiелitis. Después, la frecuencia de administración se establece a intervalos de 7 a 28 días para continuar la administración de anticuerpos. Se determina el efecto de la administración del anticuerpo anti Orai1 sobre la esclerosis múltiple.

16)-2-7 Estudio sobre la actividad supresora del anticuerpo anti Orai1 contra la artritis

100 µl de una emulsión obtenida mezclando 2 mg/ml de colágeno bovino de tipo II y un adyuvante completo de Freund en una relación de volumen de 1:1,3, se administran por vía intracutánea en la base de la cola de un ratón usando una jeringa de 1 ml y una aguja para tuberculina. Después de 2 a 3 semanas, se realiza el mismo tratamiento que el anterior. A continuación, la hinchazón articular en las extremidades se puntúa macroscópicamente o usando un calibrador de esfera para medir grosores. Al finalizar el período de ensayo, se miden las concentraciones del anticuerpo, las citocinas o los biomarcadores séricos en la sangre o los tejidos, la actividad de crecimiento, la capacidad de producción de citocinas, o antígenos de superficie de las células obtenidas de la piel, la sangre periférica, el timo, el bazo, los ganglios linfáticos o la médula ósea, etc. El anticuerpo anti Orai1 se administra por vía intravenosa o subcutánea un día antes de la inducción de la artritis o 1 hora a 4 horas antes de la inducción de la artritis. A continuación, la frecuencia de administración se establece a intervalos de 7 a 28 días para continuar la administración de anticuerpos. Se determina el efecto de la administración del anticuerpo anti Orai1 sobre la artritis.

16)-2-8 Estudio sobre la actividad supresora del anticuerpo anti Orai1 contra la colitis

Los linfocitos recogidos y purificados de los ganglios linfáticos y del bazo de un ratón con inserción del gen Orai1

humano, se aíslan con un clasificador de células usando un anticuerpo anti CD4, GK1.5, un anticuerpo anti CD25, PC61.5 y un anticuerpo anti CD45R, C363.16A (todos de eBioscience). Se confirma en un citómetro de flujo que las células obtenidas mediante este procedimiento son linfocitos T CD4+CD25-CD45RBhi que tienen una pureza del 95 % o superior. A continuación, por vía intraperitoneal, se trasplantan 500 000 células a un ratón Rag2-/- de 12 a 16 semanas de vida. A continuación, la medición del peso corporal y la observación de síntomas, tales como diarrea, se llevan a cabo durante 12 semanas. Una vez finalizado el período de observación, el grado de engrosamiento del tubo intestinal, el número y el tamaño de los pólipos y la presencia o ausencia de signos patológicos se examinan mediante autopsia. Asimismo, se cuantifican las concentraciones del anticuerpo, las citocinas o los biomarcadores séricos en la sangre o los tejidos, y se analiza la actividad de crecimiento, la capacidad de producción de citocinas, los antígenos de superficie, o similares, de las células obtenidas del tubo intestinal, la sangre periférica, el timo, el bazo, los ganglios linfáticos o la médula ósea. El anticuerpo anti Orai1 se administra por vía intravenosa o subcutánea un día antes del trasplante de células o 1 hora a 4 horas antes del trasplante de células. A continuación, la frecuencia de administración se establece a intervalos de 7 a 28 días para continuar la administración de anticuerpos. Se determina el efecto de la administración del anticuerpo anti Orai1 sobre la colitis.

16)-2-9 Estudio sobre el efecto del anticuerpo anti Orai1 sobre el sistema de trasplante de células de médula ósea

El hueso del muslo y de la tibia se extirpan de un ratón con inserción del gen Orai1 humano y las células de la médula ósea se extraen de la epífisis mediante la inyección de 1 a 5 ml de un medio RPMI1640 que contiene FBS al 10 % usando una jeringa con aguja. Después del tratamiento con un filtro celular, las células de la médula ósea se recuperan por centrifugación y se ajustan de modo que 10 000 000 células de médula ósea estén contenidas en 200 µl de un tampón de inyección que contenga HEPES 10 mM, EDTA 0,5 mM y penicilina/estreptomicina al 0,5 %. Al mismo tiempo, de acuerdo con un procedimiento estándar, se extraen esplenocitos del bazo del ratón con inserción del gen Orai1 humano. Como receptor, un ratón BALB/c de 10 a 13 semanas de vida, se irradia con rayos X de 2,0 a 8,0 Gy. A continuación, a 200 µl de las células de médula ósea del donante, se añaden de 0 a 4 000 000 de esplenocitos del donante, y esta solución mixta de células se inyecta a través de la vena de la cola del receptor. Después, durante 4 a 16 semanas, se examinan los cambios en el peso corporal y la tasa de supervivencia. Al finalizar el ensayo, se miden las concentraciones del anticuerpo, las citocinas o los biomarcadores séricos en la sangre o los tejidos del ratón receptor, y los antígenos de superficie, la actividad de crecimiento o la capacidad de producción de citocinas de las células obtenidas del tubo intestinal, la sangre periférica, el timo, el bazo, los ganglios linfáticos o la médula ósea. El anticuerpo anti Orai1 se administra por vía intravenosa o subcutánea al ratón receptor un día antes del trasplante de médula ósea o 1 hora a 4 horas antes del trasplante de médula ósea. Después, la frecuencia de administración se establece a intervalos de 7 a 28 días para continuar la administración de anticuerpos. Se determina el efecto del anticuerpo anti Orai1 sobre el injerto de las células trasplantadas o la incidencia de la enfermedad de injerto contra huésped.

[Ejemplo 17] Comparación de las propiedades fisicoquímicas entre el anticuerpo madurado por afinidad y otros anticuerpos anti Orai1 humanos

Medición de la viscosidad usando el viscosímetro m-VROC

hR198_HG1/IG1 o hR198_H3/IG1 preparados en 10)-3, hR198_HG1-LALA/IG1 preparado en 12)-3 o 2C1.1 preparado en 13)-6, se concentró a 150 mg/ml o a mayor concentración con el concentrador VIVAPORE 5 (Sartorius Japan KK) y después se preparó a 90, 120 y 150 mg/ml con HBSor. Para cada concentración, la viscosidad se midió tres veces a una temperatura de 25°C usando el viscosímetro m-VROC (RheoSense, Inc.) para calcular una viscosidad promedio (mPa·s). Los resultados se muestran en la Figura 58 y en la Tabla 1. Las viscosidades de hR198_HG1/IG1, hR198_H3/IG1 y hR198_HG1-LALA/IG1 en todas las concentraciones, fueron inferiores que la viscosidad de 2C1.1. Particularmente, a 150 mg/ml, las viscosidades de hR198_HG1/IG1, hR198_H3/IG1 y hR198_HG1-LALA/IG1 fueron 11,4, 10,0 y 10,8 mPa s, respectivamente, mientras que la viscosidad de 2C1.1 fue de 21,0 mPa-s, lo que demuestra que los anticuerpos madurados por afinidad tienen una viscosidad baja incluso a una concentración alta, en comparación con 2C1.1.

[Tabla 1]

Muestra	Concentración	Viscosidad Promedio	Viscosidad SD
	[mg/ml]	[mPa· s]	[mPa· s]
hR198_HG1/IG1	90	3,74	0,05
	120	6,11	0,02
	150	11,43	0,09
hR198_H3/IG1	90	3,66	0,04
	120	5,78	0,07
	150	9,98	0,10

hR198_HG1-LALA/IG1	90	3,74	0,06
	120	5,68	0,20
	150	10,82	0,37
2C1.1	90	4,05	0,02
	120	8,67	0,12
	150	20,96	0,08

Aplicabilidad industrial

El anticuerpo anti Orai1 humanizado de la presente invención, tiene un efecto inhibitor de la actividad de los linfocitos T más fuerte que el de los anticuerpos conocidos en la técnica, y puede servir como un agente terapéutico o profiláctico para el rechazo de trasplantes, etc.

5 Texto libre del listado de secuencias

- SEQ ID NO: 1: Secuencia génica de Orai1 humano
 SEQ ID NO: 2: Secuencia de aminoácidos de Orai1 humano
 SEQ ID NO: 3: Cebador de PCR Nhe-polyC-S
 SEQ ID NO: 4: Cebador de PCR rlgy-AS1
 10 SEQ ID NO: 5: Cebador de PCR rlgy-AS2
 SEQ ID NO: 6: Cebador de PCR Nhe-polyC-S
 SEQ ID NO: 7: Cebador de PCR rlgy-AS
 SEQ ID NO: 8: Cebador de secuenciación rlgy-seq
 SEQ ID NO: 9: Cebador de secuenciación rlgy-seq
 15 SEQ ID NO: 10: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de R118
 SEQ ID NO: 11: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de R118
 SEQ ID NO: 12: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de R118
 SEQ ID NO: 13: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de R118
 SEQ ID NO: 14: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de R198
 20 SEQ ID NO: 15: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de R198
 SEQ ID NO: 16: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de R198
 SEQ ID NO: 17: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de R198
 SEQ ID NO: 18: Fragmento de ADN que comprende una secuencia que codifica una señal de secreción de la cadena k humana y una región constante de la cadena k humana
 25 SEQ ID NO: 19: Cebador de PCR 3.3-F1
 SEQ ID NO: 20: Cebador de PCR 3.3-R1
 SEQ ID NO: 21: Fragmento de ADN que comprende una secuencia que codifica una secuencia señal de cadena pesada humana y aminoácidos de una región constante de IgG1 humana
 SEQ ID NO: 22: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de cR118 quimerizada humana
 30 SEQ ID NO: 23: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de cR118 quimerizada humana
 SEQ ID NO: 24: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de cR198 quimerizada humana
 SEQ ID NO: 25: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de cR198 quimerizada humana
 SEQ ID NO: 26: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de cR118 quimerizada humana
 SEQ ID NO: 27: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de cR118 quimerizada humana
 35 SEQ ID NO: 28: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de cR198 quimerizada humana
 SEQ ID NO: 29: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de cR198 quimerizada humana
 SEQ ID NO: 30: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_L1
 SEQ ID NO: 31: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_L1
 SEQ ID NO: 32: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_L2
 40 SEQ ID NO: 33: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_L2
 SEQ ID NO: 34: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_L3
 SEQ ID NO: 35: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_L3
 SEQ ID NO: 36: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_L4
 SEQ ID NO: 37: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_L4
 45 SEQ ID NO: 38: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_H1
 SEQ ID NO: 39: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_H1
 SEQ ID NO: 40: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_H2
 SEQ ID NO: 41: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_H2
 SEQ ID NO: 42: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_H3
 50 SEQ ID NO: 43: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_H3
 SEQ ID NO: 44: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_H4
 SEQ ID NO: 45: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_H4

	SEQ ID NO: 46: Cebador de PCR Orai1 HF
	SEQ ID NO: 47: Cebador de PCR Orai1 CH FR
	SEQ ID NO: 48: Cebador de PCR M13 rev largo
	SEQ ID NO: 49: Cebador de PCR SecM Stop R
5	SEQ ID NO: 50: Cebador de PCR Orai1 Lc F
	SEQ ID NO: 51: Cebador de PCR Orai1 CL-FR
	SEQ ID NO: 52: Cebador de PCR Orai1 HR-FLAG R
	SEQ ID NO: 53: Cebador de PCR Orai1 CL-FLAG R
10	SEQ ID NO: 54: Cebador de PCR Myc-R
	SEQ ID NO: 55: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_LG1
	SEQ ID NO: 56: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_LG1
	SEQ ID NO: 57: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_LG2
	SEQ ID NO: 58: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_LG2
	SEQ ID NO: 59: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_LG3
15	SEQ ID NO: 60: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_LG3
	SEQ ID NO: 61: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_HG1
	SEQ ID NO: 62: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_HG1
	SEQ ID NO: 63: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_HG2
	SEQ ID NO: 64: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_HG2
20	SEQ ID NO: 65: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_HG3
	SEQ ID NO: 66: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_HG3
	SEQ ID NO: 67: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_H4-LALA
	SEQ ID NO: 68: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_H4-LALA
	SEQ ID NO: 69: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_HG1-LALA
25	SEQ ID NO: 70: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_HG1-LALA
	SEQ ID NO: 71: Fragmento de ADN que comprende una secuencia que codifica una señal de secreción de cadena pesada humana y aminoácidos de una región constante de IgG2 humana
	SEQ ID NO: 72: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada del anticuerpo 2C1.1
	SEQ ID NO: 73: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 2C1.1
30	SEQ ID NO: 74: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera del anticuerpo 2C1.1
	SEQ ID NO: 75: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 2C1.1
	SEQ ID NO: 76: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada del anticuerpo 5H3.1
	SEQ ID NO: 77: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 5H3.1
	SEQ ID NO: 78: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera del anticuerpo 5H3.1
35	SEQ ID NO: 79: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 5H3.1
	SEQ ID NO: 80: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada del anticuerpo 10F8
	SEQ ID NO: 81: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 10F8
	SEQ ID NO: 82: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera del anticuerpo 10F8
	SEQ ID NO: 83: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 10F8
40	SEQ ID NO: 84: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada del anticuerpo 14F74
	SEQ ID NO: 85: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 14F74
	SEQ ID NO: 86: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera del anticuerpo 14F74
	SEQ ID NO: 87: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 14F74
	SEQ ID NO: 88: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada del anticuerpo 17F6
45	SEQ ID NO: 89: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 17F6
	SEQ ID NO: 90: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera del anticuerpo 17F6
	SEQ ID NO: 91: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 17F6
	SEQ ID NO: 92: CDRL1 de rata (que se obtuvo de R198 y que se usó para las cadenas ligeras de tipo hR198_L1 a hR198_L4)
50	SEQ ID NO: 93: CDRL1 genomodificada (que se usó para la cadena ligera de tipo hR198_LG1)
	SEQ ID NO: 94: CDRL1 genomodificada (que se usó para la cadena ligera de tipo hR198_LG2)
	SEQ ID NO: 95: CDRL1 genomodificada (que se usó para la cadena ligera de tipo hR198_LG3)
	SEQ ID NO: 96: CDRL2 de rata (que era común a R118 y R198 y que se usó para las cadenas ligeras de tipo hR198_L1 a hR198_L4 y hR198_LG1)
55	
	SEQ ID NO: 97: CDRL2 genomodificada (que se usó para la cadena ligera de tipo hR198_LG2)
	SEQ ID NO: 98: CDRL2 genomodificada (que se usó para la cadena ligera de tipo hR198_LG3)
	SEQ ID NO: 99: CDRL3 de rata (que se obtuvo de R118 y que se usó para las cadenas ligeras de tipo hR198_L3 y hR198_L4)
60	SEQ ID NO: 100: CDRL3 de rata (que se obtuvo de R198 y que se usó para las cadenas ligeras de tipo hR198_L1 y hR198_L2)
	SEQ ID NO: 101: CDRL3 genomodificada (que se usó para las cadenas ligeras de tipo hR198_LG1 a hR198_LG3)
	SEQ ID NO: 102: CDRH1 de rata (que se obtuvo de R118 y que se usó para las cadenas pesadas de tipo hR198_H3, hR198_H4, y hR198_HG1 a hR198_HG3)
65	SEQ ID NO: 103: CDRH1 de rata (que se obtuvo de R198 y que se usó para las cadenas pesadas de tipo

hR198_H1 y hR198_H2)

SEQ ID NO: 104: CDRH2 de rata (que se obtuvo de R118 y que se usó para las cadenas pesadas de tipo hR198_H3 y hR198_H4)

5 SEQ ID NO: 105: CDRH2 de rata (que se obtuvo de R198 y que se usó para las cadenas pesadas de tipo hR198_H1 y hR198_H2)

SEQ ID NO: 106: CDRH2 genomodificada (que se usó para la cadena pesada tipo hR198_HG1)

SEQ ID NO: 107: CDRH2 genomodificada (que se usó para la cadena pesada tipo hR198_HG2)

SEQ ID NO: 108: CDRH2 genomodificada (que se usó para la cadena pesada tipo hR198_HG3)

10 SEQ ID NO: 109: CDRH3 de rata (que era común a R118 y R198 y que se usó para la cadena pesada de tipo hR198_H1 a hR198_H4)

SEQ ID NO: 110: CDRH3 genomodificada (que se usó para las cadenas pesadas de tipo hR198_HG1 a hR198_HG3)

SEQ ID NO: 111: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_H0

SEQ ID NO: 112: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_H0

15 SEQ ID NO: 113: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_H5

SEQ ID NO: 114: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_H5

SEQ ID NO: 115: Secuencia peptídica de la región de bucle de Orai1 humano PEGilada marcada con biotina

SEQ ID NO: 116: CDRL1 de rata (que se obtuvo de R118, pero que no se usó para anticuerpos humanizados)

LISTADO DE SECUENCIAS

20 <110> Daiichi Sankyo Co., Ltd.

<120> Anticuerpos anti Orai1

<130> FP1522

<160> 116

<170> PatentIn versión 3.5

25 <210> 1

<211> 906

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<400> 1

ES 2 861 313 T3

```

atgcatccgg agcccgcccc gcccccgagc cgtagcagtc ccgagcttcc cccaagcggc      60
ggcagcacca ccagcggcag ccgcccggagc cgcgcgcgca gcggggacgg ggagcccccg      120
ggggccccgc caccgcccgc gtccgcccgc acctaccggg actggatcgg ccagagttac      180
tccgaggtga tgagcctcaa cgagcactcc atgcaggcgc tgccttggcg caagctctac      240
ttgagccgcg ccaagcttaa agcctccagc cggacctcgg ctctgctctc cggcttcgcc      300
atggtggcaa tgggtggaggt gcagctggac gctgaccacg actaccacc ggggctgctc      360
atgccttca gtgcctgcac cacagtgtgt gtggctgtgc acctgtttgc gctcatgac      420
agcacctgca tcctgccccaa catcgaggcg gtgagcaacg tgcacaatct caactcggtc      480
aaggagtccc cccatgagcg catgcaccgc cacatcgagc tggcctgggc cttctccacc      540
gtcattggca cgctgctctt cctagctgag gtgggtgtgc tctgctgggt caagttcttg      600
cccctcaaga agcagccagg ccagccaagg cccaccagca agccccccgc cagtggcgca      660
gcagccaacg tcagcaccag cggcatcacc ccgggccagg cagctgccat cgcctcgacc      720
accatcatgg tgccttcgg cctgatcttt atcgtcttcg ccgtccactt ctaccgctca      780
ctggttagcc ataagaccga ccgacagttc caggagctca acgagctggc ggagtttgcc      840
cgcttacagg accagctgga ccacagaggg gaccaccccc tgacgcccgg cagccactat      900
gcctag                                           906

```

<210> 2
 <211> 301
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 2
 Met His Pro Glu Pro Ala Pro Pro Pro Ser Arg Ser Ser Pro Glu Leu
 1 5 10 15

Pro Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Ser Gly Ser Arg Arg Ser Arg Arg

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

Leu Asn Glu Leu Ala Glu Phe Ala Arg Leu Gln Asp Gln Leu Asp His
275 280 285

Arg Gly Asp His Pro Leu Thr Pro Gly Ser His Tyr Ala
290 295 300

5 <210> 3
<211> 37
<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Cebador de PCR Nhe-polyC-S

10 <220>
<221> misc_feature
<222> (37)..(37)
<223> n es a, c, g o t

<400> 3
gctagcgcta ccggactcag atcccccccc cccccdn 37

15 <210> 4
<211> 28
<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Cebador de PCR rlg gamma-AS1

20 <400> 4
tcactgagct ggtgagagtg tagagccc 28

25 <210> 5
<211> 28
<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Cebador de PCR rlg gamma-AS2

30 <400> 5
tcaccgagct gctgagggtg tagagccc 28

35 <210> 6
<211> 37
<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Cebador de PCR Nhe-polyC-S

40 <220>
<221> misc_feature
<222> (37)..(37)
<223> n es a, c, g o t

<400> 6
gctagcgcta ccggactcag atcccccccc cccccdn 37

45 <210> 7
<211> 28
<212> ADN
<213> artificial

<220>

	<223> rlg kappa-AS		
	<400> 7		
	tcagtaacac tgtccaggac accatctc	28	
5	<210> 8		
	<211> 19		
	<212> ADN		
	<213> artificial		
	<220>		
	<223> rIG gamma-sec		
10	<400> 8		
	ctggctcagg gaaatagcc	19	
	<210> 9		
	<211> 19		
15	<212> ADN		
	<213> artificial		
	<220>		
	<223> rIG kappa-sec		
	<400> 9		
	tccagttgct aactgttc	19	
20	<210> 10		
	<211> 405		
	<212> ADN		
	<213> <i>Rattus rattus</i>		
	<220>		
25	<221> misc_feature		
	<222> (382)..(382)		
	<223> n es a, c, g o t		
	<220>		
	<221> misc_feature		
30	<222> (403)..(403)		
	<223> n es a, c, g o t		
	<400> 10		
	atgaaaatga cgacacctgc tcagttcctt gggcttctgt tgctctgggt tccaggtgcc	60	
	aggtgtgaca tccagttgac ccagttctcca tccacattgc ctgcatccct gggagagaga	120	
	gtcaccatca gttgcagagc aagtcagagt attagcaata gtttaagctg gtttcaacag	180	
	aaaccagatg gaactgttaa acgcctgatc tattctacat ccactttaga atctgggtgtc	240	
	ccatcaagggt tcagtgccag tgggtctggg acagattatt ctctctccat caccagtctt	300	
	gagtctgaag attttgcaat gtattactgt ctacagtttg ctacttttcc ggacacgttt	360	
	ggaactggga ccaaactgga antgagacgg gctgatgctg canca	405	
35	<210> 11		
	<211> 135		
	<212> PRT		
	<213> <i>Rattus rattus</i>		
	<220>		
40	<221> misc_feature		
	<222> (128)..(128)		

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (135)..(135)

5 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 11

Met Lys Met Thr Thr Pro Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr
20 25 30

Leu Pro Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser
35 40 45

Gln Ser Ile Ser Asn Ser Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Asp Gly
50 55 60

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

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Ser
85 90 95

Ile Thr Ser Leu Glu Ser Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Leu Gln
100 105 110

Phe Ala Thr Phe Pro Asp Thr Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Xaa
115 120 125

Arg Arg Ala Asp Ala Ala Xaa
130 135

<210> 12

<211> 468

10 <212> ADN

<213> *Rattus rattus*

<220>

<221> misc_feature

<222> (467)..(467)

15 <223> n e s a , c , g o t

<400> 12

```

atggaatgga actgggtctt tctcctcctc ctgtcagtaa ctgcagaagt ccagtcccag      60
gtccagctgc agcagtctgg agcggagctg gcaaagcctg gctcctcagt gaagatttcc      120
tgcaaggctt ccggctacac cgtcaccgcc tattatataa gttggataag gcagacgatt      180
ggacagggcc ttgagtatgt tggatatatt gacatgggaa atggaaggac taactacaat      240
gcgaggttca agggcaaggc cacattgact gtggacaaat cctccagcac agccttcatg      300
caactcagca gcctgacacc tgacgactct gcggtctatt actgtgcaag ggactccaac      360
tggggggttg attactgggg ccaaggagtc atggtcacag tctcctcagc tgaaacaaca      420
gccccatctg tctatccact ggctcctgga actgcttctc aaaagtna                    468

```

<210> 13

<211> 156

<212> PRT

<213> *Rattus rattus*

<220>

<221> misc_feature

<222> (156)..(156)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 13

```

Met Glu Trp Asn Trp Val Phe Leu Leu Leu Leu Ser Val Thr Ala Glu
 1              5              10              15

Val Gln Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Lys
      20              25              30

Pro Gly Ser Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Val
      35              40              45

Thr Ala Tyr Tyr Ile Ser Trp Ile Arg Gln Thr Ile Gly Gln Gly Leu
 50              55              60

Glu Tyr Val Gly Tyr Ile Asp Met Gly Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn
65              70              75              80

```

ES 2 861 313 T3

Ala Arg Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser
85 90 95

Thr Ala Phe Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Pro Asp Asp Ser Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Asn Trp Gly Val Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Glu Thr Thr Ala Pro Ser Val
130 135 140

Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Thr Ala Ser Gln Lys Xaa
145 150 155

<210> 14
<211> 408
<212> ADN
<213> *Rattus rattus*

<220>
<221> misc_feature
<222> (403)..(403)
<223> n e s a, c, g o t

<400> 14
atgaaaatga cgacacctgc tcagttcctt gggcttctgt tgctctggtt tccaggtgcc 60
aggtgtgaca tccagttgac ccagttctca tccacattgc ctgcatctct gggagagaga 120
gtcaccatca gttgcagagc aagtcagagt attggcaata gtttaagctg gtttcagcag 180
aaaccagatg gatctgttaa acgcctgatc tactctacat ccactttaga atctgggtgtc 240
ccatcaagggt tcagtggcag tgggtctggg acagattatt ctctctccat caccagtctt 300
gagtctgaag attttgcaat gtattactgt ctacagtttg ctacttatcc ggacacgttt 360
ggaactggga ccaaactgga actgagacgg gctgatgctg cancaact 408

<210> 15
<211> 136
<212> PRT
<213> *Rattus rattus*
<220>
<221> misc_feature
<222> (135)..(135)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 15
Met Lys Met Thr Thr Pro Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

ES 2 861 313 T3

Phe Pro Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr
20 25 30

Leu Pro Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser
35 40 45

Gln Ser Ile Gly Asn Ser Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Asp Gly
50 55 60

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

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Ser
85 90 95

Ile Thr Ser Leu Glu Ser Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Leu Gln
100 105 110

Phe Ala Thr Tyr Pro Asp Thr Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Leu
115 120 125

Arg Arg Ala Asp Ala Ala Xaa Thr
130 135

<210> 16
<211> 471
<212> ADN
<213> *Rattus rattus*

<220>
<221> misc_feature
<222> (469)..(469)
<223> n es a, c, g o t

<400> 16
atggaatgga actgggtctt tctcttcctc ctgtcagtaa ctgcagaagt ccagtcccag 60
gtccagctgc agcagtctgg agcggagctg gcaaagcctg gctcctcaat gaagatttcc 120
tgcaaggctt cgggctaccc cgtcaccagc tattatataa gttggataaa gcagacgact 180
ggacagggcc ttgagtatat tggatatgtt gacatgggaa atggacggac taactacaat 240
gagaagttca agggcaaggc cacattgact gtagacaaat cctccagcac agccttcatg 300
caactcagca gcctgacacc tgacgactct gcgggtctatt actgtgcaag ggactccaac 360
tgggggggttg attactgggg ccaaggagtc atggtcacag tctcctcagc tgaacaaca 420
gccccatctg tctatccact ggctcctgga actgctctca aaagtaacnc c 471

<210> 17
<211> 157
<212> PRT

<213> *Rattus rattus*

<220>

<221> misc_feature

<222> (157)..(157)

5 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 17

Met Glu Trp Asn Trp Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Glu
1 5 10 15

Val Gln Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Lys
20 25 30

Pro Gly Ser Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Val
35 40 45

Thr Ser Tyr Tyr Ile Ser Trp Ile Lys Gln Thr Thr Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Tyr Ile Gly Tyr Val Asp Met Gly Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn
65 70 75 80

Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser
85 90 95

Thr Ala Phe Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Pro Asp Asp Ser Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Asn Trp Gly Val Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Glu Thr Thr Ala Pro Ser Val
130 135 140

Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Thr Ala Leu Lys Ser Asn Xaa
145 150 155

<210> 18

<211> 449

10 <212> ADN

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica la señal secretora de la cadena ligera humana y la región constante Kappa humana

15 <400> 18

ES 2 861 313 T3

	gcctccggac tctagagcca ccatggtgct gcagaccag gtgttcattt ccctgctgct	60
	gtggatctcc ggcgcgtacg gcgatatcgt gatgattaaa cgtacggtgg ccgccccctc	120
	cgtgttcattt ttccccccct ccgacgagca gctgaagtcc ggcaccgcct ccgtggtgtg	180
	cctgctgaat aactttctacc ccagagaggc caaggtgcag tggaaggtgg acaacgccct	240
	gcagtccggg aactcccagg agagcgtgac cgagcaggac agcaaggaca gcacctacag	300
	cctgagcagc accctgacct tgagcaaagc cgactacgag aagcacaagg tgtacgcctg	360
	cgaggtgacc caccagggcc tgagctcccc cgtcaccaag agcttcaaca ggggggagtg	420
	ttagggggccc gtttaaacgg gggaggcta	449
5	<210> 19 <211> 30 <212> ADN <213> artificial	
	<220> <223> Cebador de PCR 3.3-F1	
10	<400> 19 tataccgtcg accctagct agagcttggc	30
	<210> 20 <211> 30 <212> ADN <213> artificial	
15	<220> <223> Cebador de PCR 3.3-R1	
	<400> 20 gctatggcag ggcctgccgc cccgacgttg	30
20	<210> 21 <211> 1132 <212> ADN <213> artificial	
	<220> <223> Secuencia de nucleótidos que codifica la señal secretora de cadena pesada humana y la región constante de IgG1 humana	
25	<400> 21	

ES 2 861 313 T3

gcctccggac tctagagcca ccatgaaaca cctgtggttc ttcctcctgc tgggtggcagc	60
tcccagatgg gtgctgagcc aggtgcaatt gtgcaggcgg ttagctcagc ctccaccaag	120
ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc	180
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctgta ccgtgagctg gaactcaggc	240
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc	300
ctcagcagcg tgggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagacctc catctgcaac	360
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggt gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac	420
aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tgggggggacc ctcagtcttc	480
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc	540
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggtc cgtggacggc	600
gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg	660
gtggtcagcg tcctcacctg cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc	720
aaggtctcca acaaagccct cccagcccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc	780
cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac	840
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg	900
gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac	960
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac	1020
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc	1080
tccctgtctc ccggcaaatg agatatcggg cccgtttaaa cgggggaggc ta	1132

<210> 22
 <211> 705
 <212> ADN
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de nucleótidos que codifica cR118_L
 <400> 22

ES 2 861 313 T3

```

atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc      60
gacatccagt tgacccagtc tccatccaca ttgcctgcat ccctgggaga gagagtcacc      120
atcagttgca gagcaagtca gagtattagc aatagtttaa gctgggttca acagaaacca      180
gatggaactg ttaaaccgct gatctattct acatccactt tagaatctgg tgtcccatca      240
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat tattctctct ccatcaccag tcttgagtct      300
gaagattttg caatgtatta ctgtctacag tttgctactt ttccggacac gtttggaact      360
gggaccaaac tggaactgag acgggctgtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc      420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac      480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggt gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag      540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc      600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc      660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gttag                          705

```

<210> 23
 <211> 234
 <212> PRT
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de aminoácidos de cR118_L
 <400> 23

ES 2 861 313 T3

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

<210> 24
 <211> 705
 <212> ADN

ES 2 861 313 T3

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica cR198_L

<400> 24

```

atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc      60
gacatccagt tgaccagtc tccatccaca ttgcctgcat ctctgggaga gagagtcacc      120
atcagttgca gagcaagtca gagtattggc aatagtttaa gctggtttca gcagaaacca      180
gatggatctg ttaaacgcct gatctactct acatccactt tagaatctgg tgtcccatca      240
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat tattctctct ccatcaccag tcttgagtct      300
gaagattttg caatgtatta ctgtctacag tttgctactt atccggacac gtttggaact      360
gggaccaaac tggaactgag acgggctgtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc      420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac      480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggt gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag      540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc      600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc      660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gttag                        705

```

5

<210> 25

<211> 234

<212> PRT

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de cR198_L

<400> 25

```

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1              5              10              15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Pro
20              25              30

Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
35              40              45

Ile Gly Asn Ser Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Asp Gly Ser Val
50              55              60

```

10

ES 2 861 313 T3

Lys Arg Leu Ile Tyr Ser Thr Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

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

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Leu Gln Phe Ala
100 105 110

Thr Tyr Pro Asp Thr Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Leu Arg Arg
115 120 125

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

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

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

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

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 26

<211> 1401

<212> ADN

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica cR118_H

<400> 26

ES 2 861 313 T3

atgaaacacc	tgtggttctt	cctcctgctg	gtggcagctc	ccagatgggt	gctgagccag	60
gtccagctgc	agcagtctgg	agcggagctg	gcaaagcctg	gctcctcagt	gaagatttcc	120
tgcaaggctt	ccggctacac	cgtcaccgcc	tattatataa	gttgataag	gcagacgatt	180
ggacagggcc	ttgagtatgt	tggatatatt	gacatgggaa	atggaaggac	taactacaat	240
gcgaggttca	agggcaaggc	cacattgact	gtggacaaat	cctccagcac	agccttcatg	300
caactcagca	gcctgacacc	tgacgactct	gcggtctatt	actgtgcaag	ggactccaac	360
tgggggggtg	attactgggg	ccaaggagtc	atggtcacag	tcagctcagc	ctccaccaag	420
ggcccaagcg	tcttccccct	ggcaccctcc	tccaagagca	cctctggcgg	cacagccgcc	480
ctgggctgcc	tgggtcaagga	ctacttcccc	gaacccgtga	ccgtgagctg	gaactcaggc	540
gccctgacca	gcggcggtga	caccttcccc	gctgtcctgc	agtcctcagg	actctactcc	600
ctcagcagcg	tgggtgaccgt	gccctccagc	agcttgggca	cccagacctc	catctgcaac	660
gtgaatcaca	agcccagcaa	caccaagggt	gacaagagag	ttgagcccaa	atcttgtgac	720
aaaactcaca	catgcccacc	ctgcccagca	cctgaactcc	tgggggggacc	ctcagtcttc	780
ctcttcccc	caaaacccaa	ggacaccctc	atgatctccc	ggaccctga	ggtcacatgc	840
gtggtggtgg	acgtgagcca	cgaagaccct	gaggtcaagt	tcaactggta	cgtggacggc	900
gtggaggtgc	ataatgccaa	gacaaagccc	cgggaggagc	agtacaacag	cacgtaccgg	960
gtggtcagcg	tcctcacogt	cctgcaccag	gactggctga	atggcaagga	gtacaagtgc	1020
aaggtctcca	acaaagccct	cccagcccc	atcgagaaaa	ccatctccaa	agccaaaggc	1080
cagccccggg	aaccacaggt	gtacaccctg	cccccatccc	gggaggagat	gaccaagaac	1140
caggtcagcc	tgacctgcct	ggtcaaaggc	ttctatccca	gcgacatcgc	cgtggagtgg	1200
gagagcaatg	gccagcccga	gaacaactac	aagaccaccc	ctcccggtgc	ggactccgac	1260
ggctccttct	tcctctacag	caagctcacc	gtggacaaga	gcaggtggca	gcagggcaac	1320
gtcttctcat	gctccgtgat	gcatgaggct	ctgcacaacc	actacacca	gaagagcctc	1380
tccctgtctc	ccggcaaatg	a				1401

<210> 27

<211> 466

<212> PRT

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de cR118_H

<400> 27

ES 2 861 313 T3

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Lys
20 25 30

Pro Gly Ser Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Val
35 40 45

Thr Ala Tyr Tyr Ile Ser Trp Ile Arg Gln Thr Ile Gly Gln Gly Leu

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

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

Gly Lys
465

<210> 28

<211> 1401

<212> ADN

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica cR198_H

<400> 28

ES 2 861 313 T3

atgaaacacc tgtggttctt ctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag	60
gtccagctgc agcagtctgg agcggagctg gcaaagcctg gctcctcaat gaagatttcc	120
tgcaaggctt cgggctaccc cgtcaccagc tattatataa gttggataaa gcagacgact	180
ggacagggcc ttgagtatat tggatatgtt gacatgggaa atggacggac taactacaat	240
gagaagttca agggcaaggc cacattgact gtagacaaat cctccagcac agccttcatg	300
caactcagca gcctgacacc tgacgactct gcggtctatt actgtgcaag ggactccaac	360
tggggggttg attactgggg ccaaggagtc atggtcacag tcagctcagc ctccaccaag	420
ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc	480
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctga ccgtgagctg gaactcaggc	540
gccctgacca gggcgctgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc	600
ctcagcagcg tgggtaccgt gccctccagc agcttgggca cccagacctc catctgcaac	660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac	720
aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tggggggacc ctcagtcttc	780
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc	840
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc	900
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg	960
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc	1020
aaggtctcca acaaagccct cccagcccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc	1080
cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac	1140
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg	1200
gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac	1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac	1320
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc	1380
tccctgtctc ccggcaaatg a	1401

<210> 29
 <211> 466
 <212> PRT
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de aminoácidos de cR198_H
 <400> 29

ES 2 861 313 T3

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Lys
20 25 30

Pro Gly Ser Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Val
35 40 45

Thr Ser Tyr Tyr Ile Ser Trp Ile Lys Gln Thr Thr Gly Gln Gly Leu
50 55 60

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

[illegible]

<210> 30
<211> 705
<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_L1

<400> 30

ES 2 861 313 T3

atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc	60
gatatccagc tgaccagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggcga cagagtgacc	120
atcacctgta gagccagcca gagcatcggc aacagcctga gctgggtcca gcagaaaccc	180
ggcaaggccc ccaagcggct gatctacagc accagcacc tggaaagcgg cgtgccagc	240
agattttctg gcagcggctc cggcaccgac tacaccctga caatcagcag cctgcagccc	300
gaggacttcg ccatgtacta ctgcctgcag ttcgccacct accccgacac ctttggccag	360
ggcaccaagg tggaatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc	420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac	480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag	540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc	600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc	660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gttag	705

<210> 31
 <211> 234
 <212> PRT
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de aminoácidos de hR198_L1
 <400> 31

ES 2 861 313 T3

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

<210> 32
 <211> 705
 <212> ADN
 <213> artificial

ES 2 861 313 T3

<220>

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_L2

<400> 32

atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc	60
gatatccagc tgaccagag ccctagcagc ctgtctgccg gcgtgggcga cagagtgacc	120
atcacctgta gagccagcca gagcatcggc aacagcctga gctggttcca gcagaaaccc	180
ggcaaggccg tgaagcggct gatctacagc accagcaccg tggaagcgg cgtgccagc	240
agattttctg gcagcggctc cggcaccgac tacaccctga caatcagcag cctgcagccc	300
gaggacttcg ccatgtacta ctgcctgcag ttgccacct accccgacac ctttgccag	360
ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc	420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac	480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag	540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc	600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc	660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gttag	705

5

<210> 33

<211> 234

<212> PRT

<213> artificial

10

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de hR198_L2

<400> 33

ES 2 861 313 T3

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

<210> 34
<211> 705

<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_L3

5 <400> 34

atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc	60
gatatccagc tgacccagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggcga cagagtgacc	120
atcacctgta gagccagcca gagcatcggc aacagcctga gctgggtcca gcagaaaccc	180
ggcaaggccc ccaagcggct gatctacagc accagcacc c tggaaagcgg cgtgcccagc	240
agattttctg gcagcggctc cggcaccgac tacaccctga caatcagcag cctgcagccc	300
gaggacttcg ccatgtacta ctgcctgcag ttcgccacct tccccgacac ctttggccag	360
ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacgggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc	420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtgggtg gcctgctgaa taacttctac	480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag	540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc	600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc	660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggaggt gtttag	705

<210> 35
<211> 234
<212> PRT
<213> artificial

10 <220>
<223> Secuencia de aminoácidos de hR198_L3

<400> 35

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

ES 2 861 313 T3

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

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Leu Gln Phe Ala
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 36

<211> 705

<212> ADN

<213> artificial

5

<220>

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_L4

<400> 36

ES 2 861 313 T3

atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc	60
gatatccagc tgaccagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggcga cagagtgacc	120
atcacctgta gagccagcca gagcatcggc aacagcctga gctgggtcca gcagaaaccc	180
ggcaaggccg tgaagcggct gatctacagc accagcacc tggaaagcgg cgtgcccagc	240
agattttctg gcagcggctc cggcacccgac tacaccctga caatcagcag cctgcagccc	300
gaggacttcg ccatgtacta ctgcctgcag ttcgccacct tccccgacac ctttggccag	360
ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc	420
tccgacgagc agctgaagtc cggcacccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taactttctac	480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag	540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc	600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc	660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gttag	705

<210> 37
 <211> 234
 <212> PRT
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de aminoácidos de hR198_L4
 <400> 37

ES 2 861 313 T3

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

<210> 38
<211> 1401

ES 2 861 313 T3

<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_H1

5

<400> 38

```

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag      60
gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc      120
tgcaaggcct ctggctaccc cgtgaccagc tactacatca gctgggtcag acaggcccca      180
ggccagggcc tggaatacat cggctatgtg gacatgggca acggccggac caactacaac      240
gagaagttca agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg      300
gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac      360
tggggcgctg actattgggg ccagggcaca ctcgtgaccg tcagctcagc ctccaccaag      420
ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc      480
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccctga ccgtgagctg gaactcaggc      540
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc      600
ctcagcagcg tggtagccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac      660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac      720
aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tggggggacc ctcagtcttc      780
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc      840
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc      900
gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg      960
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc     1020
aaggctctca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc     1080

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac     1140
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg     1200
gagagcaatg gccagccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac     1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac     1320
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc     1380
tccctgtctc ccggcaaatg a                                           1401

```

<210> 39
<211> 466
<212> PRT
<213> artificial

10

<220>
<223> Secuencia de aminoácidos de hR198_H1

<400> 39

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

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

Gly Lys
465

<210> 40

<211> 1401

<212> ADN

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_H2

<400> 40

5

ES 2 861 313 T3

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag	60
gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc	120
tgcaaggcct ctggctaccc cgtgaccagc tactacatca gctggatcag acaggcccca	180
ggccagggcc tggaatacat cggctatgtg gacatgggca acggccggac caactacaac	240
gagaagttca agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg	300
gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac	360
tggggcgtgg actattgggg ccagggcaca ctctgtaccg tcagctcagc ctccaccaag	420
ggccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc	480
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccctga ccgtgagctg gaactcaggc	540
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc	600
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca ccagacctc catctgcaac	660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac	720
aaaactcaca catgccacc ctgcccagca cctgaactcc tggggggacc ctcagtcttc	780
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc	840
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc	900
gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg	960
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc	1020
aaggtctcca acaaagccct cccagcccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc	1080
cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac	1140
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg	1200
gagagcaatg gccagcccg gaacaactac aagaccacc ctcccgtgct ggactccgac	1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac	1320
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc	1380
tccctgtctc ccggcaaattg a	1401

<210> 41
 <211> 466
 <212> PRT
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de aminoácidos de hR198_H2
 <400> 41

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

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

Gly Lys
465

<210> 42

<211> 1401

<212> ADN

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_H3

<400> 42

ES 2 861 313 T3

```

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag      60
gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc      120
tgcaaggcct ctggctaccc cgtgaccgcc tactacatca gctgggtcag acaggcccca      180
ggccagggcc tggaatacgt gggctacatc gacatgggca acggccggac caactacaac      240
gcccggttta agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg      300
gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac      360
tggggcgtgg actattgggg ccagggcaca ctcgtgaccg tcagctcagc ctccaccaag      420
ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc      480
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaacccgtga ccgtgagctg gaactcaggc      540
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc      600
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta catctgcaac      660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac      720
aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tgggggggacc ctcagtcttc      780
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc      840
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc      900
gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg      960
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc     1020
aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctcaa agccaaaggc     1080
cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac     1140
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg     1200
gagagcaatg gccagcccg gaacaactac aagaccacc ctcccgtgct ggactccgac     1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac     1320
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc     1380
tcctgtctc ccggcaaatg a                                     1401

```

<210> 43

<211> 466

<212> PRT

<213> artificial

5

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de hR198_H3

<400> 43

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 225 230 235 240

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 245 250 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 275 280 285

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 370 375 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

ES 2 861 313 T3

420

425

430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

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

Gly Lys
465

<210> 44

<211> 1401

<212> ADN

<213> artificial

5

<220>

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_H4

<400> 44

ES 2 861 313 T3

atgaaacacc	tgtggttctt	cctcctgctg	gtggcagctc	ccagatgggt	gctgagccag	60
gtgcagctgg	tgcagtctgg	cgccgaagtg	aagaaaccag	gcgccagcgt	gaagggtgtcc	120
tgcaaggcct	ctggctaccc	cgtgaccgcc	tactacatca	gctggatcag	acaggcccca	180
ggccagggcc	tggaatacgt	gggctacatc	gacatgggca	acggccggac	caactacaac	240
gcccggttta	agggcagagc	caccctgacc	gtggacaaga	gcaccagcac	cgcctacatg	300
gaactgagca	gcctgcggag	cgaggacacc	gccgtgtact	actgcgccag	agacagcaac	360
tggggcgctg	actattgggg	ccagggcaca	ctcgtgaccg	tcagctcagc	ctccaccaag	420
ggcccaagcg	tcttccccct	ggcaccctcc	tccaagagca	cctctggcgg	cacagccgcc	480
ctgggctgcc	tgggtcaagga	ctacttcccc	gaacccgtga	ccgtgagctg	gaactcaggc	540
gccctgacca	gcggcgctga	caccttcccc	gctgtcctgc	agtcctcagg	actctactcc	600
ctcagcagcg	tgggtaccgt	gccctccagc	agcttgggca	cccagaccta	catctgcaac	660
gtgaatcaca	agcccagcaa	caccaaggtg	gacaagagag	ttgagcccaa	atcttgtgac	720
aaaactcaca	catgcccacc	ctgcccagca	cctgaactcc	tgggggggacc	ctcagtcttc	780
ctcttcccc	caaaacccaa	ggacaccctc	atgatctccc	ggaccctga	ggtcacatgc	840
gtgggtggtg	acgtgagcca	cgaagaccct	gagggtcaagt	tcaactggta	cgtggacggc	900
gtggaggtgc	ataatgccaa	gacaaagccc	cgggaggagc	agtacaacag	cacgtaccgg	960
gtggtcagcg	tcctcaccgt	cctgcaccag	gactggctga	atggcaagga	gtacaagtgc	1020
aagggtctcca	acaaagccct	cccagcccc	atcgagaaaa	ccatctccaa	agccaaaggc	1080
cagccccggg	aaccacaggt	gtacaccctg	cccccatccc	gggaggagat	gaccaagaac	1140
caggtcagcc	tgacctgcct	ggtcaaaggc	ttctatccca	gcgacatcgc	cgtggagtgg	1200
gagagcaatg	gccagcccga	gaacaactac	aagaccaccc	ctcccgtgct	ggactccgac	1260
ggctccttct	tcctctacag	caagctcacc	gtggacaaga	gcaggtggca	gcagggcaac	1320
gtcttctcat	gctccgtgat	gcatgaggct	ctgcacaacc	actacacca	gaagagcctc	1380
tcctgtctc	ccggcaaata	g				1401

<210> 45
 <211> 466
 <212> PRT
 <213> artificial

<220>
 <223> Secuencia de aminoácidos de hR198_H4

<400> 45

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

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

Gly Lys
465

5 <210> 46
<211> 23
<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Cebador de PCR Orai1 HF

<400> 46
atgcaagtcc aactggttca atc 23

10 <210> 47
<211> 21
<212> ADN
<213> artificial

<220>
15 <223> Cebador de PCR Orai1 CH FR

<400> 47
tgacggagcc agcgggaaga c 21

20 <210> 48
<211> 21
<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Cebador de PCR M13 rev largo

25 <400> 48
caggaaacag ctatgacat g 21

<210> 49
<211> 31
<212> ADN
<213> artificial

30 <220>
<223> Cebador de PCR SecM Stop R

<400> 49
ctcgagttat tcattaggtg aggcgttgag g 31

35 <210> 50
<211> 24
<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Cebador de PCR Orai1 Lc F

40 <400> 50
atggacattc aactgaccca aagc 24

<210> 51

ES 2 861 313 T3

	<211> 24		
	<212> ADN		
	<213> artificial		
5	<220>		
	<223> Cebador de PCR Orai1 CL-FR		
	<400> 51		
	gataaaaaca ctcggggccg ccac	24	
10	<210> 52		
	<211> 63		
	<212> ADN		
	<213> artificial		
	<220>		
	<223> Cebador de PCR Orai1 HR-FLAG R		
	<400> 52		
	tcattatttg tcatcgatcat ctttatagtc gaattcttcg ccacgattaa aggatttggt	60	
15	gac		63
	<210> 53		
	<211> 63		
	<212> ADN		
	<213> artificial		
20	<220>		
	<223> Cebador de PCR Orai1 CL-FLAG R		
	<400> 53		
	tcattatttg tcatcgatcat ctttatagtc gaattcttcg ccacgattaa aggatttggt	60	
	gac		63
25	<210> 54		
	<211> 30		
	<212> ADN		
	<213> artificial		
	<220>		
	<223> Cebador de PCR Myc-R		
30	<400> 54		
	cagatcctcc tcagagatca gcttctgctc	30	
35	<210> 55		
	<211> 705		
	<212> ADN		
	<213> artificial		
	<220>		
	<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_LG1		
	<400> 55		

ES 2 861 313 T3

```

atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc      60
gatatccagc tgaccagag ccctagcagc ctgtctgccg gcgtgggcga cagagtgacc      120
atcacctgta gagccagcca gagcatcggc ggagccctga gctgggtcca gcagaaaccc      180
ggcaaggccc ccaagcggct gatctacagc accagcaccc tggaaagcgg cgtgcccagc      240
agatcttctg gcagcggctc cggcaccgac tacaccctga caatcagcag cctgcagccc      300
gaggacttcg ccatgtacta ctgcctgcag ttcgccatct tccccgacag ctttggccag      360
ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc      420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac      480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggt gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag      540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc      600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc      660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gttag                          705

```

<210> 56
 <211> 234
 <212> PRT
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de aminoácidos de hR198_LG1
 <400> 56

ES 2 861 313 T3

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

<210> 57
 <211> 705
 <212> ADN
 <213> artificial

ES 2 861 313 T3

<220>

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_LG2

<400> 57

atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc	60
gatatccagc tgaccagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggcga cagagtgacc	120
atcacctgtc acgccagcca gaacatcggc ggcagcctga gctgggtcca gcagaaaccc	180
ggcaaggccc ccaagcggct gatctacctg accagcacc c tggactgggg cgtgccagc	240
agattttctg gcagcggctc cggcaccgac tacaccctga caatcagcag cctgcagccc	300
gaggacttcg ccatgtacta ctgcctgcag ttcgccatct tccccgacag ctttggccag	360
ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc	420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac	480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag	540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc	600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc	660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gttag	705

5

<210> 58

<211> 234

<212> PRT

<213> artificial

10

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de hR198_LG2

<400> 58

ES 2 861 313 T3

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn
35 40 45

Ile Gly Gly Ser Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Thr Ser Thr Leu Asp Trp Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

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

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Leu Gln Phe Ala
100 105 110

Ile Phe Pro Asp Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115 120 125

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

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

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

165 170 175

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

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 59
<211> 705

<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_LG3

5

<400> 59
atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60
gatatccagc tgaccagag ccctagcagc ctgtctgccg gcgtgggcga cagagtgacc 120
atcacctgtc acgccagccg gaacatcggc ggagcctga gctgggtcca gcagaaaccc 180
ggcaaggccc ccaagcggct gatctacctg accagcagcc tggactgggg cgtgcccagc 240
agattttctg gcagcggctc cggcaccgac tacaccctga caatcagcag cctgcagccc 300
gaggacttcg ccatgtacta ctgcctgcag ttccgccatct tccccgacag ctttggccag 360
ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacgggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc 420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gttag 705

<210> 60
<211> 234
<212> PRT
<213> artificial

10

<220>
<223> Secuencia de aminoácidos de hR198_LG3
<400> 60

ES 2 861 313 T3

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

<210> 61
<211> 1401

ES 2 861 313 T3

<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_HG1

5

<400> 61

atgaaacacc	tgtggttctt	cctcctgctg	gtggcagctc	ccagatgggt	gctgagccag	60
gtgcagctgg	tgcagtctgg	cgccgaagtg	aagaaaccag	gcgccagcgt	gaaggtgtcc	120
tgcaaggcct	ctggctaccc	cgtgaccgcc	tactacatca	gctgggtcag	acaggcccca	180
ggccagggcc	tggaatacgt	gggctacatc	gacatgggca	acggccggac	cgactacaac	240
gcccggttta	agggcagagc	caccctgacc	gtggacaaga	gcaccagcac	cgcctacatg	300
gaactgagca	gcctgcggag	cgaggacacc	gccgtgtact	actgcgccag	agacagcaac	360
tggggcgccg	actattgggg	ccagggcaca	ctcgtgaccg	tcagctcagc	ctccaccaag	420
ggcccaagcg	tcttccccct	ggcaccctcc	tccaagagca	cctctggcgg	cacagccgcc	480
ctgggctgcc	tgggtcaagga	ctacttcccc	gaacccgtga	ccgtgagctg	gaactcaggc	540
gccctgacca	gcggcggtga	caccttcccc	gctgtcctgc	agtcctcagg	actctactcc	600
ctcagcagcg	tgggtgaccgt	gccctccagc	agcttgggca	cccagaccta	catctgcaac	660
gtgaatcaca	agcccagcaa	caccaaggtg	gacaagagag	ttgagcccaa	atcttgtgac	720
aaaactcaca	catgcccacc	ctgcccagca	cctgaactcc	tggggggacc	ctcagtcttc	780
ctcttcccc	caaaacccaa	ggacaccctc	atgatctccc	ggaccctga	ggtcacatgc	840
gtggtggtgg	acgtgagcca	cgaagaccct	gaggtcaagt	tcaactggta	cgtggacggc	900
gtggaggtgc	ataatgccaa	gacaaagccc	cgggaggagc	agtacaacag	cacgtaccgg	960
gtggtcagcg	tcctcaccgt	cctgcaccag	gactggctga	atggcaagga	gtacaagtgc	1020
aaggtctcca	acaaagccct	cccagccccc	atcgagaaaa	ccatctccaa	agccaaaggc	1080
cagccccggg	aaccacaggt	gtacaccctg	cccccatccc	gggaggagat	gaccaagaac	1140
caggtcagcc	tgacctgcct	ggtcaaaggc	ttctatccca	gcgacatcgc	cgtggagtgg	1200
gagagcaatg	gccagcccga	gaacaactac	aagaccaccc	ctcccgtgct	ggactccgac	1260
ggctccttct	tcctctacag	caagctcacc	gtggacaaga	gcaggtggca	gcagggcaac	1320
gtcttctcat	gctccgtgat	gcatgaggct	ctgcacaacc	actacacca	gaagagcctc	1380
tcctgtctc	ccggcaaatg	a				1401

<210> 62
<211> 466
<212> PRT
<213> artificial

10

<220>
<223> Secuencia de aminoácidos de hR198_HG1

ES 2 861 313 T3

<400> 62

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

ES 2 861 313 T3

[illegible]

<210> 63
<211> 1401
<212> ADN
<213> artificial

<220>

ES 2 861 313 T3

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_HG2

<400> 63

```

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag      60
gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc      120
tgcaaggcct ctggctaccc catcaccgcc tactacatca gctgggtcag acaggcccca      180
ggccagggcc tggaatacgt gggctacatc gacatgggca acggccggac cgactacaac      240
ggccgggtta agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg      300
gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac      360
tggggcgccg actattgggg ccagggcaca ctcgtgaccg tcagctcagc ctccaccaag      420
ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc      480
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaacccgtga ccgtgagctg gaactcaggc      540
gccctgacca gcggcgctga caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc      600
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca ccagacctc catctgcaac      660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggt gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac      720
aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tgggggggacc ctcagtcttc      780
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc      840
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc      900
gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg      960
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc     1020
aaggctctca acaaagccct ccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc     1080
cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac     1140
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg     1200
gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccacc ctcccgtgct ggactccgac     1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac     1320
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc     1380
tccctgtctc ccggcaaatg a                                     1401

```

<210> 64

<211> 466

<212> PRT

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de hR198_HG2

<400> 64

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
275 280 285

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

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

Gly Lys
465

<210> 65
<211> 1401
<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_HG3
<400> 65

ES 2 861 313 T3

```

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag      60
gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc      120
tgcaaggcct ctggctaccc catcaccgcc tactacatca gctgggtcag acaggcccca      180
ggccagggcc tggaatacgt gggctacatc gacatgggca acggccggac cgactacaac      240
atgcggttta agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg      300
gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac      360
tggggcgccg actattgggg ccagggcaca ctctgtaccg tcagctcagc ctccaccaag      420
ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc      480
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccctga ccgtgagctg gaactcaggc      540
gccctgacca gcggcgtgca caccctcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc      600
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta catctgcaac      660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac      720
aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tgggggggacc ctcagtcttc      780
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc      840
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc      900
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg      960
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc     1020
aaggtctcca acaaagccct ccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc     1080
cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac     1140
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg     1200
gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccacc ctcccgtgct ggactccgac     1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac     1320
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc     1380
tcctgtctc ccggcaaata a

```

<210> 66
 <211> 466
 <212> PRT
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de aminoácidos de hR198_HG3
 <400> 66

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
275 280 285

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

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

Gly Lys
465

<210> 67

<211> 1401

<212> ADN

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_H4-LALA

<400> 67

ES 2 861 313 T3

```

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag      60
gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc      120
tgcaaggcct ctggctaccc cgtgaccgcc tactacatca gctggatcag acaggcccca      180
ggccagggcc tggatacgtt gggctacatc gacatgggca acggccggac caactacaac      240
gcccggttta agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg      300
gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac      360
tggggcgtgg actattgggg ccagggcaca ctcgtgaccg tcagctcagc ctccaccaag      420
ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc      480
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccctga ccgtgagctg gaactcaggc      540
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc      600
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta catctgcaac      660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggt gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac      720
aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaagccg cgggggggacc ctcagtcttc      780
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc      840
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc      900
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg      960
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc     1020
aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc     1080
cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac     1140
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcg cgtggagtgg     1200
gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac     1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac     1320
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc     1380
tcctgtctc ccggcaaattg a                                     1401

```

<210> 68

<211> 466

<212> PRT

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de hR198_H4-LALA

<400> 68

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
275 280 285

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

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

Gly Lys
465

<210> 69
<211> 1401
<212> ADN
<213> artificial

5

<220>
<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_HG1-LALA
<400> 69

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60
gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc 120
tgcaaggcct ctggctaccc cgtgaccgcc tactacatca gctgggtcag acaggcccca 180
ggccagggcc tggaatacgt gggctacatc gacatgggca acggccggac cgactacaac 240
gcccggttta agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg 300
gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac 360
tggggcgccg actattgggg ccagggcaca ctcgtgaccg tcagctcagc ctccaccaag 420
ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc 480
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctga ccgtgagctg gaactcaggg 540
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc 600
ctcagcagcg tgggtaccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta catctgcaac 660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac 720
aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaagccg cgggggggacc ctcagtcttc 780
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc 840
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 900
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg 960
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1020
aaggtctcca acaaagccct ccagaccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc 1080
cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200
gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac 1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac 1320
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc 1380
tcctgtctc ccggcaaattg a 1401

<210> 70

<211> 466

<212> PRT

<213> artificial

5

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de hR198_HG1-LALA

<400> 70

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

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

<210> 71
 <211> 1118
 <212> ADN
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de nucleótidos que codifica la señal secretora de cadena pesada humana y la región constante de IgG2 humana

ES 2 861 313 T3

<400> 71

gcctccggac tctagagcca ccatgaaaca cctgtggttc ttcctcctgc tggaggcagc	60
tcccagatgg gtgctgagcc aggtgcaatt gtgcaggcgg ttagctcagc cagcaccaag	120
ggcccttcgg tgttcctctt ggcccttgt agccgttcca ccagcgagtc caccgcccgc	180
cttggctgtc tggagaagga ctacttcctt gaggctgtga ccgtgagctg gaactccgga	240
gcccttacca gcggcgtgca caccttcctt gccgtgctgc agtccagcgg cctttactcc	300
ctgagctccg tggtagccgt gcctagctcc aacttcggca cccaaacctt cacctgtaac	360
gtggaccaca agcctagcaa caccaagggt gacaagaccg tggagcgtaa gtgttggtg	420
gagtgtcctc cttgtcctgc ccctcctgtg gccggacctt ccgtgttcct tttccctcct	480
aagcctaagg acaccctgat gatcagccgt acccctgagg tgacctgtgt ggtggtggac	540
gtgtcccacg aggaccctga ggtgcagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcac	600
aacgccaaga ccaagcctcg tgaggagcaa ttcaacagca ccttccgtgt ggtgtccgtg	660
cttaccgtgg tgcaccaaga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgtaa ggtgagcaac	720
aagggacttc ctgcccctat cgagaagacc atctccaaga ccaagggcca acctcgtgag	780
cctcaagtgt acacccttcc tcctagccgt gaggagatga ccaagaacca agtgtccctt	840
acctgtctgg tgaagggtt ctaccctagc gacatcgccg tggagtggga gtccaacgga	900
caacctgaga acaactacaa gaccaccctt cctatgcttg acagcgacgg ctcccttcttc	960
ctgtacagca agctgaccgt ggacaagtcc cgttggaac aaggcaacgt gttcagctgt	1020
tccgtgatgc acgaggccct gcacaaccac tacacccaaa agagcctttc cctgagccct	1080
ggaaagtgat atcgggcccg tttaaaccgg ggaggcta	1118

<210> 72

<211> 1395

<212> ADN

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de 2C1.1

<400> 72

ES 2 861 313 T3

atgaaacacc	tgtggttctt	cctcctgctg	gtggcagctc	ccagatgggt	gctgagccag	60
gtgcagctgc	agcagtgggg	agccggcctg	ctgaagccca	gcgagacact	gagcctgacc	120
tgcgctgtgt	acggaggcag	cttcagcggc	tactactggg	cctggatccg	gcagccccct	180
ggcaagggcc	tggaatggat	cggcgagatc	gaccacagcg	gcagcaccaa	ctacaacccc	240
gccctgaagt	cccggtgac	catcagcgtg	gacaccagca	agaaccagtt	cagcctgaag	300
ctgagcagcg	tgacagccgc	cgacaccgcc	gtgtactact	gtgccagagc	cggcagcggc	360
ggctacgagg	attggttcga	tccttggggc	cagggcaccc	tggtgaccgt	cagctcagcc	420
agcaccaagg	gcccttcctg	gttccctctg	gccccttgta	gccgttccac	cagcgagtcc	480
accgccgccc	ttggctgtct	ggtgaaggac	tacttccctg	agcctgtgac	cgtgagctgg	540
aactccggag	cccttaccag	cggcgtgcac	accttccctg	ccgtgctgca	gtccagcggc	600
ctttactccc	tgagctccgt	ggtgaccgtg	cctagctcca	acttcggcac	ccaaacctac	660
acctgtaacg	tggaccacaa	gcctagcaac	accaaggtgg	acaagaccgt	ggagcgtaag	720
tgttgtgtgg	agtgtcctcc	ttgtcctgcc	cctcctgtgg	ccggaccttc	cgtgttcctt	780
ttccctccta	agcctaagga	caccctgatg	atcagccgta	cccctgaggt	gacctgtgtg	840
gtggtggacg	tgtcccacga	ggaccctgag	gtgcagttca	actggtacgt	ggacggcgtg	900
gaggtgcaca	acgccaagac	caagcctcgt	gaggagcaat	tcaacagcac	cttccgtgtg	960
gtgtccgtgc	ttaccgtggg	gcaccaagac	tggctgaacg	gcaaggagta	caagtgtgag	1020
gtgagcaaca	agggacttcc	tgcccctatc	gagaagacca	tctccaagac	caagggccaa	1080
cctcgtgagc	ctcaagtgtg	cacccttcct	cctagccgtg	aggagatgac	caagaaccaa	1140
gtgtccctta	cctgtctggg	gaagggcttc	taccctagcg	acatcgccgt	ggagtgggag	1200
tccaacggac	aacctgagaa	caactacaag	accacccctc	ctatgcttga	cagcgacggc	1260
tccttcttcc	tgtacagcaa	gctgaccgtg	gacaagtccc	gttggcaaca	aggcaacgtg	1320
ttcagctgtt	ccgtgatgca	cgaggccctg	cacaaccact	acacccaaaa	gagcctttcc	1380
ctgagccctg	gaaag					1395

<210> 73
 <211> 465
 <212> PRT
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 2C1.1
 <400> 73

ES 2 861 313 T3

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys
20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe
35 40 45

Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro

ES 2 861 313 T3

65		70		75		80									
Ala	Leu	Lys	Ser	Arg	Leu	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln
				85					90					95	
Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
			100					105					110		
Tyr	Cys	Ala	Arg	Ala	Gly	Ser	Gly	Gly	Tyr	Glu	Asp	Trp	Phe	Asp	Pro
		115					120					125			
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly
	130					135					140				
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser
145					150					155					160
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
				165					170					175	
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
			180					185					190		
Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
		195					200					205			
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val
	210					215					220				
Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys
225					230					235					240
Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	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	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
	290					295					300				
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val
305					310					315					320

ES 2 861 313 T3

Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
325 330 335

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
340 345 350

Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
355 360 365

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met 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 Met 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

Lys
465

<210> 74

<211> 739

<212> ADN

<213> artificial

5

<220>

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de 2C1.1

<400> 74

ES 2 861 313 T3

atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc	60
cagtccgtgc tgaccagcc tccttccgtg tctggcgccc ctggccagag agtgaccatc	120
agctgtaccg gcagcagcag caacatcgga gccggctaca acgtgcactg gtatcagcag	180
ttcccccgga ccgaccccaa gctgctgacg tacgtgtaca acatccggcc cagcggcgtg	240
cccgaccggt tttctggcag cagaagcggc acaagcgcca gcctggccat caccggcctg	300
cagaccgagg acgaggccga ctactactgc cagagctacg acagcagcct gagcggcgtg	360
gtgttcggcg gaggcaccaa gctgacagtg ctgggcccagc ccaaggccaa cccaccgtg	420
accctgttcc cccaagcag cgaggaactg caggccaaca aggccaccct ggtgtgcctg	480
atcagcgact tctaccctgg cgccgtgaca gtggcctgga aggccgatgg atctcccgtg	540
aaggccggcg tggaaccac caagcccagc aagcagagca acaacaaata cgccgccagc	600
agctacctga gcctgacccc cgagcagtgg aagtcccacc ggtcctacag ctgccaggtg	660
acacacgagg gcagcacctg ggaaaagacc gtggccccca ccgagtgcag ctagggggccc	720
gtttaaacgg gggaggcta	739

<210> 75
 <211> 237
 <212> PRT
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de 2C1.1
 <400> 75

ES 2 861 313 T3

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

<210> 76
<211> 1395

<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de 5H3.1

5

<400> 76

atgaaacacc	tgtggttctt	cctcctgctg	gtggcagctc	ccagatgggt	gctgagccag	60
gtgcagctgg	tgcagtctgg	cgccgaagtg	aagaaacctg	gcgctagcgt	gaaggtgtcc	120
tgcaaggcca	gctgctacac	cttcaccgac	tactacatga	actgggtgcg	ccaggctcca	180
ggacagggcc	tggaatggat	gggctggatc	aacccaacaa	gctggcgccac	caaatacgcc	240
cagaaattcc	agggcagagt	gaccatgacc	cgggacacca	gcacccggac	cgcctacatg	300
gaactgagcc	ggctgagaag	cgacgacacc	gccgtgtact	actgcgccag	agagtacggc	360
ggcaacagcg	attggttcga	cccctggggc	cagggcaccc	tggtgaccgt	cagctcagcc	420
agcaccaagg	gcccttccgt	gttcctctct	gccccttgta	gccgttccac	cagcgagtcc	480
accgccgccc	ttggctgtct	ggtgaaggac	tacttccctg	agcctgtgac	cgtgagctgg	540
aactccggag	cccttaccag	cgccgtgcac	accttccctg	ccgtgctgca	gtccagcggc	600
ctttactccc	tgagctccgt	ggtgaccgtg	cctagctcca	acttcggcac	ccaaacctac	660
acctgtaacg	tggaccacaa	gcctagcaac	accaaggtgg	acaagaccgt	ggagcgtaag	720
tgttgtgtgg	agtgtcctcc	ttgtcctgcc	cctcctgtgg	ccggaccttc	cgtgttcctt	780
ttccctccta	agcctaagga	caccctgatg	atcagccgta	cccctgaggt	gacctgtgtg	840
gtggtggacg	tgtcccacga	ggaccctgag	gtgcagttca	actggtacgt	ggacggcgtg	900
gaggtgcaca	acgccaagac	caagcctcgt	gaggagcaat	tcaacagcac	cttccgtgtg	960
gtgtccgtgc	ttaccgtggg	gcaccaagac	tggtgaacg	gcaaggagta	caagtgtgaa	1020
gtgagcaaca	agggacttcc	tgcccctatc	gagaagacca	tctccaagac	caagggccaa	1080
cctcgtgagc	ctcaagtgtg	cacccttcct	cctagccgtg	aggagatgac	caagaaccaa	1140
gtgtccctta	cctgtctggg	gaagggtctc	taccctagcg	acatcgccgt	ggagtgggag	1200
tccaacggac	aacctgagaa	caactacaag	accacccctc	ctatgcttga	cagcgacggc	1260
tccttcttcc	tgtacagcaa	gctgaccgtg	gacaagtccc	gttggcaaca	aggcaacgtg	1320
ttcagctgtt	ccgtgatgca	cgaggccctg	cacaaccact	acacccaaaa	gagcctttcc	1380
ctgagccctg	gaaag					1395

<210> 77
<211> 465
<212> PRT
<213> artificial

10

<220>
<223> Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 5H3.1

<400> 77

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
 165 170 175
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 180 185 190
 Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
 195 200 205
 Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
 210 215 220
 Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
 225 230 235 240
 Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala 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 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 290 295 300
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
 305 310 315 320
 Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 325 330 335
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 340 345 350
 Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 355 360 365
 Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met 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 Met Leu

ES 2 861 313 T3

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

Lys
465

<210> 78
<211> 742
<212> ADN
<213> artificial

5

<220>
<223> Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de 5H3.1
<400> 78

atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc	60
cagtccgtgc tgaccagcc tccttccgtg tctggcgccc ctggccagag agtgaccatc	120
agctgtaccg gcagcagcag caacatcgga gctggatacg acgtgcactg gtatcagcag	180
ctgcccggca ccgccccaa gctgctgatac tacggcaaca gcaaccggcc cagcggcgtg	240
cccgatagat tcagcggcag caagagcggc accagcgcca gcctggccat taccggactg	300
caggccgagg acgaggccga ctactactgc cagagctacg acaaccggct gagcgacagc	360
gtggtgatcg gcggaggcac caagctggcc gtgcaggac agcccaaggc caaccccacc	420
gtgaccctgt tcccccaag cagcgaggaa ctgcaggcca acaaggccac cctggtgtgc	480
ctgatcagcg acttctaccc tggcgccgtg acagtggcct ggaaggccga tggatctccc	540
gtgaaggccg gcgtggaaac caccaagccc agcaagcaga gcaacaacaa atacgccgcc	600
agcagctacc tgagcctgac ccccgagcag tggaagtccc accggtccta cagctgccag	660
gtgacacacg agggcagcac cgtggaaaag accgtggccc ccaccgagtg cagctagggg	720
cccgtttaaa cgggggaggc ta	742

10 <210> 79
<211> 238
<212> PRT
<213> artificial

15 <220>
<223> Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de 5H3.1
<400> 79

ES 2 861 313 T3

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly
20 25 30

Ala Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn
35 40 45

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

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

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala
85 90 95

Ile Thr Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser
100 105 110

Tyr Asp Asn Arg Leu Ser Asp Ser Val Val Ile Gly Gly Gly Thr Lys
115 120 125

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

Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys
145 150 155 160

Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala
165 170 175

Asp Gly Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys
180 185 190

Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro
195 200 205

Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu
210 215 220

Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225 230 235

<210> 80
<211> 1433

ES 2 861 313 T3

<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de 10F8

5

<400> 80

```
ccagcctccg gactctagag ccaccatgaa gcacctgtgg ttctttctgc tgctgggtggc      60
cgctcccaga tgggtgctgt ctcaggtgca gctgcagcag tctggcgccg aactcgtgcg      120
gcctggaagc agcgtgaaga tcagctgcaa ggccagcggc tacgccttcc ggtcctactg      180
gatgaactgg gtcaagcaga ggccaggcca gggcctggaa tggatcggcc acatctatcc      240
cggcgacggc gacaccaact acaacggcaa gttcaagggc aaggccaccc tgaccgccga      300
caagagcagc agcacagcct acatgcagct gtccagcctg accagcgagg acagcgccgt      360
gtacctgtgt ggcagaggcg gcacaaccgt ggtggtggat tattggggcc agggcaccac      420
actgaccgtg tccagcgcca agaccacccc cccatctgtg taccctctgg cccctggatc      480
tgccgcccag accaagcaga tggtcaccct gggctgcctc gtgaagggtc acttccctga      540
gcctgtgacc gtgacctgga acagcggctc tctgtctagc ggcgtgcaca cctttccagc      600
cgtgctgcag agcgacctgt acaccctgag cagctccgtg accgtgccta gcagcacctg      660
gcctagcgag acagtgcctt gcaacgtggc ccaccctgcc agctctacca aggtggacaa      720
gaaaatcgtg ccccgggact ggggctgcaa gccctgtatc tgtaccgtgc ccgaggtgtc      780
ctccgtgttc atcttccac ccaagcccaa ggacgtgctg accatcacc tgacacccaa      840
agtgcacatg gtggtggtgg acatcagcaa ggacgacccc gaggtgcagt tcagttggtt      900
cgtggacgac gtggaagtgc acacagccca gaccagccc agagaggaac agttcaacag      960
caccttcaga agcgtgtccg agctgcccac catgcaccag gactggctga acggcaaaga     1020
attcaagtgc agagtgaaca gcgccgcctt ccctgcccc atcgagaaaa ccatctccaa     1080
gaccaagggc agaccaagg cccccagggt gtacacaatc cccccaccca aagaacagat     1140
ggccaaggac aaggtgtccc tgacctgcat gatcaccgat ttcttcccag aggacatcac     1200
cgtggaatgg cagtggaacg gccagcccgc cgagaactac aagaacaccc agcctatcat     1260
ggacaccgac ggcagctact tcgtgtacag caagctgaac gtgcagaagt ccaactggga     1320
ggccggcaac accttcacct gtagcgtgct gcacgagggc ctgcacaatc accacaccga     1380
gaagtccctg tcccacagcc ccggcaaatg agtttaaacg ggggaggcta act           1433
```

<210> 81
<211> 461
<212> PRT
<213> artificial

10

<220>
<223> Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 10F8

<400> 81

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

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

<210> 82
 <211> 770
 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>

ES 2 861 313 T3

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de 10F8

<400> 82

ccagcctccg gactctagag ccaccatggt gctgcagacc caggtgttca tcagcctgct	60
gctgtggatc agcggcgcct acggcgacat cgtgatgagc cagagcccta gcagcctggc	120
cgtgtctgcc ggcgagaaag tgaccatgag ctgcaagagc agccagtccc tgctgaacag	180
ccggacccgg aagaactacc tggcctggta tcagcagaag cccggccagt cccccaagct	240
gctgatctac tgggcccagca ccagagaaag cggcgtgccc gatagattca ccggcagcgg	300
ctctggcacc gacttcaccc tgacaatcag cagcgtgcag gccgaggacc tggctgtgta	360
ctactgcaag cagagctaca acctgccctg gaccttcggc ggaggcacca agctggaaat	420
caagagagcc gacgccgctc ccaccgtgtc catctttcca cctagcagcg agcagctgac	480
cagcggcgga gctagcgtcg tgtgcttcct gaacaacttc taccccaagg acatcaacgt	540
gaagtggaag atcgacggca gcgagcggca gaacggcgtg ctgaatagct ggaccgacca	600
ggacagcaag gactccacct acagcatgtc cagcaccctg accctgacca aggacgagta	660
cgagcggcac aacagctaca catgcgaggg caccacaag accagcacct ccccatcgt	720
gaagtccttc aaccggaacg agtgctgagt ttaaacgggg gaggctaact	770

<210> 83

<211> 240

<212> PRT

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de 10F8

<400> 83

ES 2 861 313 T3

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

<210> 84
 <211> 1436
 <212> ADN

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de 14F74

<400> 84

ccagcctccg gactctagag ccaccatgaa gcacctgtgg ttcttttctgc tgctggtggc	60
cgctcccaga tgggtgctgt ctcaggtgca gctgcagcag tctggcgccg aactcgtgcg	120
gcctggaagc agcgtgaaga tcagctgcaa ggccagcggc tacgccttca gcagctactg	180
gatgaactgg gtcaagcagc ggccaggcca gggcctggaa tggatcggcc atatctatcc	240
cggcgacggc gacaccaact acaacggcaa gttcaagggc aaggccaccc tgaccgccga	300
caagagcagc agcacagcct acatgcagct gagcggcctg accagcgagg acagcgccgt	360
gtacttctgc gccagaagcg gcagactgag attcgccatg gactactggg gccagggcac	420
cagcgtgaca gtgtctagcg ccaagaccac cccccccagc gtgtaccctc tggctcctgg	480
atctgccgcc cagaccaaca gcatggtcac cctgggctgc ctcgtgaagg gctacttccc	540
tgagcctgtg accgtgacct ggaacagcgg ctctctgtct agcggcgtgc acacctttcc	600
agccgtgctg cagagcgacc tgtacacct gagcagctcc gtgaccgtgc ctagcagcac	660
ctggcctagc gagacagtga cctgcaacgt ggcccacct gccagctcta ccaaggtgga	720
caagaaaatc gtgccccggg actgcggctg caagccctgt atctgtaccg tgcccagagt	780
gtccagcgtg ttcattcttc cacccaagcc caaggacgtg ctgaccatca ccctgacacc	840
caaagtgacc tgtgtggtgg tggacatcag caaggacgac cccgaggtgc agttcagttg	900
gttcgtggac gacgtggaag tgcacacagc ccagaccag cccagagagg aacagttcaa	960
cagcaccttc agaagcgtgt ccgagctgcc catcatgcac caggactggc tgaacggcaa	1020
agaattcaag tgcagagtga acagcgccgc cttccctgcc cccatcgaga aaaccatctc	1080
caagaccaag ggcagacca aggccctca ggtgtacaca atccccccac ccaaagaaca	1140
gatggccaag gacaaggtgt ccctgacctg catgatcacc gatttcttcc cagaggacat	1200
caccgtggaa tggcagtgga acggccagcc cgccgagaac tacaagaaca cccagcctat	1260
catggacacc gacggcagct acttcgtgta cagcaagctg aacgtgcaga agtccaactg	1320
ggaggccggc aacaccttca cctgtagcgt gctgcacgag ggcctgcaca atcaccacac	1380
cgagaagtcc ctgtcccaca gccccggcaa atgagtttaa acgggggagg ctaact	1436

5

<210> 85

<211> 462

<212> PRT

<213> artificial

10

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 14F74

<400> 85

ES 2 861 313 T3

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg
20 25 30

Pro Gly Ser Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe
35 40 45

Ser Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly His Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn
65 70 75 80

Gly Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser

ES 2 861 313 T3

85							90							95						
Thr	Ala	Tyr	Met	Gln	Leu	Ser	Gly	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val					
			100					105					110							
Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Ser	Gly	Arg	Leu	Arg	Phe	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp					
		115					120					125								
Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro					
	130					135					140									
Ser	Val	Tyr	Pro	Leu	Ala	Pro	Gly	Ser	Ala	Ala	Gln	Thr	Asn	Ser	Met					
145				150						155					160					
Val	Thr	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr					
				165					170					175						
Val	Thr	Trp	Asn	Ser	Gly	Ser	Leu	Ser	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro					
			180					185					190							
Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Asp	Leu	Tyr	Thr	Leu	Ser	Ser	Ser	Val	Thr	Val					
		195					200					205								
Pro	Ser	Ser	Thr	Trp	Pro	Ser	Glu	Thr	Val	Thr	Cys	Asn	Val	Ala	His					
	210					215					220									
Pro	Ala	Ser	Ser	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Ile	Val	Pro	Arg	Asp	Cys					
225					230					235					240					
Gly	Cys	Lys	Pro	Cys	Ile	Cys	Thr	Val	Pro	Glu	Val	Ser	Ser	Val	Phe					
				245					250					255						
Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Val	Leu	Thr	Ile	Thr	Leu	Thr	Pro					
			260					265					270							
Lys	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Ile	Ser	Lys	Asp	Asp	Pro	Glu	Val					
		275					280					285								
Gln	Phe	Ser	Trp	Phe	Val	Asp	Asp	Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr					
	290					295					300									
Gln	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Ser	Val	Ser	Glu					
305					310					315					320					
Leu	Pro	Ile	Met	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Phe	Lys	Cys					
				325					330					335						

ES 2 861 313 T3

Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
340 345 350

Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro
355 360 365

Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile
370 375 380

Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly
385 390 395 400

Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp
405 410 415

Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp
420 425 430

Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His
435 440 445

Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 86

<211> 767

<212> ADN

<213> artificial

5

<220>

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de 14F74

<400> 86

ES 2 861 313 T3

ccagcctccg gactctagag ccaccatggt gctgcagacc caggtgttca tcagcctgct	60
gctgtggatc agcggcgcct acggcgacat cgtgatgagc cagagcccta gcagcctggc	120
cgtgtctgcc ggcgagaaag tgaccatgag ctgcaagagc agccagtccc tgctgaacag	180
ccggacccgg aagaactacc tggcctggta tcagcagaag cccggccagt cccccaagct	240
gctgatctac tgggccagca ccagagaaag cggcgtgccc gatagattca ccggcagcgg	300
ctctggcacc gacttcaccc tgacaatcag cagcgtgcag gccgaggacc tggctgtgta	360
ctactgcaag cagagctaca acctgcggac cttcggcgga ggcaccaagc tggaaatcca	420
gagagccgac gccgctccca ccgtgtccat ctttccacct agcagcgagc agctgaccag	480
cggcggagct agcgtcgtgt gcttcctgaa caacttctac cccaaggaca tcaacgtgaa	540
gtggaagatc gacggcagcg agcggcagaa cggcgtgctg aatagctgga ccgaccagga	600
cagcaaggac tccacctaca gcatgtccag caccctgacc ctgaccaagg acgagtacga	660
gcggcacaac agctacacat gcgaggccac ccacaagacc agcacctccc ccatcgtgaa	720
gtccttcaac cggaacgagt gctgagttta aacgggggag gctaact	767

<210> 87
 <211> 239
 <212> PRT
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de 14F74
 <400> 87

ES 2 861 313 T3

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

<210> 88
<211> 1436

<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de 17F6

5

<400> 88
ccagcctccg gactctagag ccaccatgaa gcacctgtgg ttctttctgc tgctggtggc 60
cgctcccaga tgggtgctgt cttaggtgca gctgcagcag tctggcgccg aactcgtgcg 120
gcctggaagc agcgtgaaga tcagctgcaa ggccagcggc tacgccttca gcagctactg 180
gatgaactgg gtcaagcagc ggccaggcca gggcctggaa tggatcggcc atatctatcc 240
cggcgacgcc gacaccaact acaacggcaa gttcaagggc aaggccaccc tgaccgccga 300
caagagcagc agcacagcct acatgcacct gtccagcctg accagcgagg acagcgccgt 360
gtacttctgc agccggcagc tgggcttcag atacgccatg gactattggg gccagggcac 420
cagcgtgacc gtgtctagcg ccaagaccac cccccctagc gtgtaccctc tggcccctgg 480
atctgccgcc cagaccaaca gcatggtcac cctgggctgc ctctggaagg gctacttccc 540
tgagcctgtg accgtgacct ggaacagcgg ctctctgtct agcggcgtgc acacctttcc 600
agccgtgctg cagagcgacc tgtacaccct gagcagctcc gtgacagtgc ccagctctac 660
ctggcccagc gagacagtga cctgcaacgt ggcccaccct gccagcagca ccaaggtgga 720
caagaaaatc gtgccccggg actgcggctg caagccctgt atctgtaccg tgcccagagt 780
gtccagcgtg ttcatcttcc cacccaagcc caaggacgtg ctgaccatca ccctgacacc 840
caaagtgacc tgtgtggtgg tggacatcag caaggacgac cccgaggtgc agttcagttg 900
gttcgtggac gacgtggaag tgcacacagc ccagaccag cccagagagg aacagttcaa 960
cagcaccttc agaagcgtgt ccgagctgcc catcatgcac caggactggc tgaacggcaa 1020
agaattcaag tgcagagtga acagcgccgc cttccctgcc cccatcgaga aaaccatctc 1080
caagaccaag ggcagaccca agggccccca ggtgtacaca atccccccac ccaagaaca 1140
gatggccaag gacaaggtgt ccctgacctg catgatcacc gatttcttcc cagaggacat 1200
caccgtggaa tggcagtgga acggccagcc cgccgagaac tacaagaaca cccagcctat 1260
catggacacc gacggcagct acttcgtgta cagcaagctg aacgtgcaga agtccaactg 1320
ggaggccggc aacaccttca cctgtagcgt gctgcacgag ggcctgcaca atcaccacac 1380
cgagaagtcc ctgtcccaca gccccggcaa atgagtttaa acgggggagg ctaact 1436

<210> 89
<211> 462
<212> PRT
<213> artificial

10

<220>
<223> Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 17F6

ES 2 861 313 T3

<400> 89

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

ES 2 861 313 T3

Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Asp	Leu	Tyr	Thr	Leu	Ser	Ser	Ser	Val	Thr	Val	195	200	205
Pro	Ser	Ser	Thr	Trp	Pro	Ser	Glu	Thr	Val	Thr	Cys	Asn	Val	Ala	His	210	215	220
Pro	Ala	Ser	Ser	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Ile	Val	Pro	Arg	Asp	Cys	225	230	235
Gly	Cys	Lys	Pro	Cys	Ile	Cys	Thr	Val	Pro	Glu	Val	Ser	Ser	Val	Phe	245	250	255
Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Val	Leu	Thr	Ile	Thr	Leu	Thr	Pro	260	265	270
Lys	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Ile	Ser	Lys	Asp	Asp	Pro	Glu	Val	275	280	285
Gln	Phe	Ser	Trp	Phe	Val	Asp	Asp	Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	290	295	300
Gln	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Ser	Val	Ser	Glu	305	310	315
Leu	Pro	Ile	Met	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Phe	Lys	Cys	325	330	335
Arg	Val	Asn	Ser	Ala	Ala	Phe	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	340	345	350
Lys	Thr	Lys	Gly	Arg	Pro	Lys	Ala	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Ile	Pro	Pro	355	360	365
Pro	Lys	Glu	Gln	Met	Ala	Lys	Asp	Lys	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Met	Ile	370	375	380
Thr	Asp	Phe	Phe	Pro	Glu	Asp	Ile	Thr	Val	Glu	Trp	Gln	Trp	Asn	Gly	385	390	395
Gln	Pro	Ala	Glu	Asn	Tyr	Lys	Asn	Thr	Gln	Pro	Ile	Met	Asp	Thr	Asp	405	410	415
Gly	Ser	Tyr	Phe	Val	Tyr	Ser	Lys	Leu	Asn	Val	Gln	Lys	Ser	Asn	Trp	420	425	430
Glu	Ala	Gly	Asn	Thr	Phe	Thr	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Gly	Leu	His			

ES 2 861 313 T3

435

440

445

Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 90
<211> 767
<212> ADN
<213> artificial

5

<220>
<223> Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de 17F6
<400> 90

ccagcctccg gactctagag ccaccatggt gctgcagacc caggtgttca tcagcctgct	60
gctgtggatc agcggcgccct acggcgacat cgtgatgagc cagagcccta gcagcctggc	120
cgtgtctgcc ggcgagaaag tgaccatgag ctgcaagagc agccagtccc tgctgaacag	180
ccggaccccg aagaactacc tggcctggta tcagcagaag cccggccagt cccccaagct	240
gctgatctac tgggccagca ccagagaaag cggcgtgccc gatagattca ccggcagcgg	300
ctctggcacc gacttcaccc tgacaatcag cagcgtgcag gccgaggacc tggctgtgta	360
ctactgcaag cagagctaca acctgcggac cttcggcgga ggcaccaagc tggaaatcaa	420
gagagccgac gccgctccca ccgtgtccat ctttccacct agcagcgagc agctgaccag	480
cggcggagct agcgtcgtgt gcttcctgaa caacttctac cccaaggaca tcaacgtgaa	540
gtggaagatc gacggcagcg agcggcagaa cggcgtgctg aatagctgga ccgaccagga	600
cagcaaggac tccacctaca gcatgtccag caccctgacc ctgaccaagg acgagtacga	660
gcggcacaac agctacacat gcgaggccac ccacaagacc agcacctccc ccacgtgaa	720
gtccttcaac cggaacgagt gctgagttaa aacgggggag gctaact	767

<210> 91
<211> 239
<212> PRT
<213> artificial

10

<220>
<223> Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de 17F6
<400> 91

15

ES 2 861 313 T3

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

<210> 92
 <211> 11
 <212> PRT

<213> *Rattus rattus*

<400> 92

Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Gly	Asn	Ser	Leu	Ser
1				5					10	

<210> 93

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial

<220>

<223> CDRL1 de hR198_LG1

<400> 93

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

<210> 94

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial

<220>

<223> CDRL1 de hR198_LG2

<400> 94

His	Ala	Ser	Gln	Asn	Ile	Gly	Gly	Ser	Leu	Ser
1				5					10	

<210> 95

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial

<220>

<223> CDRL1 de hR198_LG3

<400> 95

His	Ala	Ser	Arg	Asn	Ile	Gly	Gly	Ser	Leu	Ser
1				5					10	

<210> 96

<211> 7

<212> PRT

<213> *Rattus rattus*

<400> 96

Ser	Thr	Ser	Thr	Leu	Glu	Ser
1				5		

<210> 97

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial

<220>

<223> CDRL2 de hR198_LG2

<400> 97

ES 2 861 313 T3

		Leu Thr Ser Thr Leu Asp Trp
		1 5
5	<210> 98 <211> 7 <212> PRT <213> artificial	
	<220> <223> CDRL2 de hR198_LG3	
	<400> 98	
10		Leu Thr Ser Ser Leu Asp Trp
		1 5
15	<210> 99 <211> 9 <212> PRT <213> <i>Rattus rattus</i>	
	<400> 99	
20		Leu Gln Phe Ala Thr Phe Pro Asp Thr
		1 5
25	<210> 100 <211> 9 <212> PRT <213> <i>Rattus rattus</i>	
	<400> 100	
30		Leu Gln Phe Ala Thr Tyr Pro Asp Thr
		1 5
	<210> 101 <211> 9 <212> PRT <213> artificial	
	<220> <223> CDRL3 de hR198_LG1 a LG3	
	<400> 101	
35		Leu Gln Phe Ala Ile Phe Pro Asp Ser
		1 5
	<210> 102 <211> 5 <212> PRT <213> <i>Rattus rattus</i>	
	<400> 102	
40		Ala Tyr Tyr Ile Ser
		1 5
	<210> 103 <211> 5 <212> PRT <213> <i>Rattus rattus</i>	

ES 2 861 313 T3

<400> 103

Ser Tyr Tyr Ile Ser
1 5

5 <210> 104
<211> 17
<212> PRT
<213> *Rattus rattus*

10 <400> 104

Tyr Ile Asp Met Gly Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Ala Arg Phe Lys
1 5 10 15

Gly

15 <210> 105
<211> 17
<212> PRT
<213> *Rattus rattus*

<400> 105

Tyr Val Asp Met Gly Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

20 <210> 106
<211> 17
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> CDRH2 de hR198_HG1

<400> 106

Tyr Ile Asp Met Gly Asn Gly Arg Thr Asp Tyr Asn Ala Arg Phe Lys
1 5 10 15

25 Gly

<210> 107
<211> 17
<212> PRT
<213> artificial

30 <220>
<223> CDRH2 de hR198_HG2

<400> 107

ES 2 861 313 T3

Tyr Ile Asp Met Gly Asn Gly Arg Thr Asp Tyr Asn Gly Arg Phe Lys
1 5 10 15

Gly

5 <210> 108
<211> 17
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> CDRH2 de hR198_HG3
<400> 108

Tyr Ile Asp Met Gly Asn Gly Arg Thr Asp Tyr Asn Met Arg Phe Lys
1 5 10 15

Gly

10 <210> 109
<211> 8
<212> PRT
<213> *Rattus rattus*

15 <400> 109

Asp Ser Asn Trp Gly Val Asp Tyr
1 5

20 <210> 110
<211> 8
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> CDRH3 de hR198_HG1 a HG3
<400> 110

Asp Ser Asn Trp Gly Ala Asp Tyr
1 5

25 <210> 111
<211> 1401
<212> ADN
<213> artificial

30 <220>
<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_H0
<400> 111

ES 2 861 313 T3

```

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag      60
gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc      120
tgcaaggcct ctggctaccc cgtgaccagc tactacatca gctggatcag acaggcccca      180
ggccaggggc tggaatggat cggctatgtg gacatgggca acggccggac caactacaac      240
gagaagttca agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg      300
gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac      360
tggggcgtgg actattgggg ccagggcaca ctctgaccg tcagctcagc ctccaccaag      420
ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc      480
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccctga ccgtgagctg gaactcaggc      540
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc      600
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac      660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggt gacaagagag ttgagccaa atcttgtgac      720
aaaactcaca catgcccacc ctgccagca cctgaactcc tggggggacc ctcagtcttc      780
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc      840
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc      900
gtggagggtgc ataatgccaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg      960
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc      1020
aaggtctcca acaaagccct cccagcccc atcgagaaaa ccatctcaa agccaaaggc      1080
cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac      1140
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg      1200
gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccacc ctcccgtgct ggactccgac      1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac      1320
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc      1380
tccctgtctc ccggcaaagt a                                     1401

```

<210> 112
 <211> 466
 <212> PRT
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de aminoácidos de hR198_H0
 <400> 112

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
275 280 285

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

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

Gly Lys
465

<210> 113
<211> 1401
<212> ADN
<213> artificial

ES 2 861 313 T3

<223> Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_H5

<400> 113

```

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag      60
gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaagggtgtcc      120
tgcaaggcct ctggctaccc cgtgaccgcc tactacatca gctggatcag acaggcccca      180
ggccagggcc tggaatggat cggctacatc gacatgggca acggccggac caactacaac      240
gcccggttta agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg      300
gaactgagca gcctgctggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac      360
tggggcgtgg actattgggg ccagggcaca ctctgtaccg tcagctcagc ctccaccaag      420
ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc      480
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctgta ccgtgagctg gaactcaggc      540
gccctgacca ggggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc      600
ctcagcagcg tgggtaccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta catctgcaac      660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac      720
aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tgggggggacc ctcagtcttc      780
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc      840
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc      900
gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg      960
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc      1020
aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc      1080
cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac      1140
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg      1200
gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac      1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac      1320
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc      1380
tccctgtctc ccggcaaattg a                                     1401

```

<210> 114

<211> 466

<212> PRT

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de hR198_H5

<400> 114

```

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1           5           10           15

```

ES 2 861 313 T3

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

ES 2 861 313 T3

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

<210> 115
 <211> 48
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 115

ES 2 861 313 T3

Ser Gly Ser Gly Phe Leu Pro Leu Lys Lys Gln Pro Gly Gln Pro Arg

1 5 10 15

Pro Thr Ser Lys Pro Pro Ala Ser Gly Ala Ala Ala Asn Val Ser Thr
20 25 30

Ser Gly Ile Thr Pro Gly Gln Ala Ala Ala Ile Ala Ser Thr Thr Ile
35 40 45

<210> 116

<211> 11

<212> PRT

5 <213> *Rattus rattus*

<400> 116

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Ser Leu Ser
1 5 10

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo que se une específicamente a la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 2, en el que el anticuerpo comprende:

- 5 a) una secuencia de región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 20 a 136 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 62 y una secuencia de región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 126 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 56;
- 10 b) una secuencia de región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 20 a 136 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 62 y una secuencia de región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 126 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 58;
- 15 c) una secuencia de región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 20 a 136 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 62 y una secuencia de región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 126 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 60;
- d) una secuencia de región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 20 a 136 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 64 y una secuencia de región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 126 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 56;
- 20 e) una secuencia de región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 20 a 136 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 66 y una secuencia de región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 126 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 56; o
- 25 f) una secuencia de región variable de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 20 a 136 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 43 y una secuencia de región variable de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 126 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 56.

2. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según la reivindicación 1, en el que el anticuerpo consiste en:

- 30 a) una secuencia de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 20 a 465 o 20 a 466 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 62 y una secuencia de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 234 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 56;
- 35 b) una secuencia de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 20 a 465 o 20 a 466 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 70 y una secuencia de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 234 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 56;
- 40 c) una secuencia de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 20 a 465 o 20 a 466 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 62 y una secuencia de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 234 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 58;
- 45 d) una secuencia de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 20 a 465 o 20 a 466 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 62 y una secuencia de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 234 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 60;
- e) una secuencia de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 20 a 465 o 20 a 466 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 64 y una secuencia de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 234 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 56;
- 50 f) una secuencia de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 20 a 465 o 20 a 466 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 66 y una secuencia de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 234 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 56; o
- 55 g) una secuencia de cadena pesada que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 20 a 465 o 20 a 466 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 43 y una secuencia de cadena ligera que consiste en restos de aminoácido de las posiciones 21 a 235 en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 56.

3. El fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según la reivindicación 1, en el que el fragmento de unión a antígeno se selecciona del grupo que consiste en Fab, F(ab')₂, Fab' y Fv.

- 60 4. El anticuerpo según la reivindicación 1, en el que el anticuerpo es un scFv.

5. Una composición farmacéutica que comprende al menos uno cualquiera del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según las reivindicaciones 1 a 4.

6. La composición farmacéutica según la reivindicación 5, en la que la composición farmacéutica es un agente terapéutico y/o profiláctico para el rechazo de trasplantes, enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario, enfermedades alérgicas, enfermedades inflamatorias, o cánceres, o un activador antiplaquetario o antitrombótico.

7. La composición farmacéutica según la reivindicación 6, en la que los rechazos de trasplantes son respuestas de rechazo y reacciones del hospedador contra el injerto al trasplante de un órgano o un tejido, tal como el corazón, el riñón, el hígado, la médula ósea o la piel, y la enfermedad de injerto contra huésped causada por el trasplante de células hematopoyéticas (tales como de médula ósea, sangre periférica o de sangre del cordón umbilical).

8. La composición farmacéutica según la reivindicación 6, en la que

las enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario son enfermedades del tejido conectivo o musculoesqueléticas (tales como artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, lupus eritematoso sistémico, esclerodermia, polimiositis o dermatomiositis), enfermedades hematológicas (tales como anemia aplásica o púrpura trombocitopénica idiopática), enfermedades gastrointestinales (tales como enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa), enfermedades neurológicas (tales como esclerosis múltiple o miastenia grave), enfermedades oftálmicas (tales como uveítis), enfermedades vasculares (tales como enfermedad de Behcet o granulomatosis de Wegener), enfermedades epidérmicas (tales como psoriasis, pénfigo o leucodermia) y enfermedades endocrinas (tales como diabetes mellitus de tipo 1, tiroiditis autoinmunitaria, enfermedad de Graves o enfermedad de Hashimoto),

las enfermedades alérgicas son dermatitis atópica, asma, anafilaxia, reacción anafilactoide, alergia alimentaria, rinitis, otitis media, reacción a los fármacos, reacción a las picaduras de insectos, reacción a las plantas, alergia al látex, conjuntivitis y urticaria, y las enfermedades inflamatorias son nefropatías inflamatorias (tales como glomerulonefritis o nefrosis), enfermedades pulmonares inflamatorias (tales como neumopatía obstructiva crónica, fibrosis quística o neumonía intersticial), enteropatías inflamatorias (tales como colitis ulcerosa o ileítis), hepatopatías inflamatorias (tales como hepatitis autoinmunitaria o hepatitis vírica), cardiopatías inflamatorias (tales como miocarditis, cardiopatía isquémica o aterosclerosis), enfermedades inflamatorias de la piel (tales como dermatitis de contacto o eccema), enfermedades oculares inflamatorias (tales como tracoma, endoftalmia), enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central (tales como meningitis, encefalomiелitis o encefalitis autoinmunitaria), artropatías inflamatorias (tales como artritis o artrosis) e inflamaciones sistémicas (tales como septicemia, hemorragia, hipersensibilidad o síntomas de choque atribuidos a la quimioterapia contra el cáncer).

9. La composición farmacéutica según la reivindicación 6, en la que los cánceres son cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de piel y leucemia, y los casos en los que la actividad antiplaquetaria o antitrombótica es útil para el tratamiento y/o la prevención son, infarto de miocardio, ictus, cardiopatías isquémicas y trombosis, y los casos en los que la inhibición de la activación de células que expresan Orai1 es útil para el tratamiento y/o la prevención son, leucemia mastocítica, mastocitosis, leucemia basófila, endometriosis, síndrome de Stormorken, miopatía con agregados tubulares, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante y dermatitis atópica.

10. Un polinucleótido que codifica el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

11. Un vector que comprende el polinucleótido según la reivindicación 10.

12. Una célula hospedadora transformada que comprende el polinucleótido según la reivindicación 10 o el vector según la reivindicación 11.

13. Un procedimiento de producción del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende la etapa de cultivar la célula hospedadora según la reivindicación 12 y purificar un anticuerpo del producto de cultivo.

Figura 1

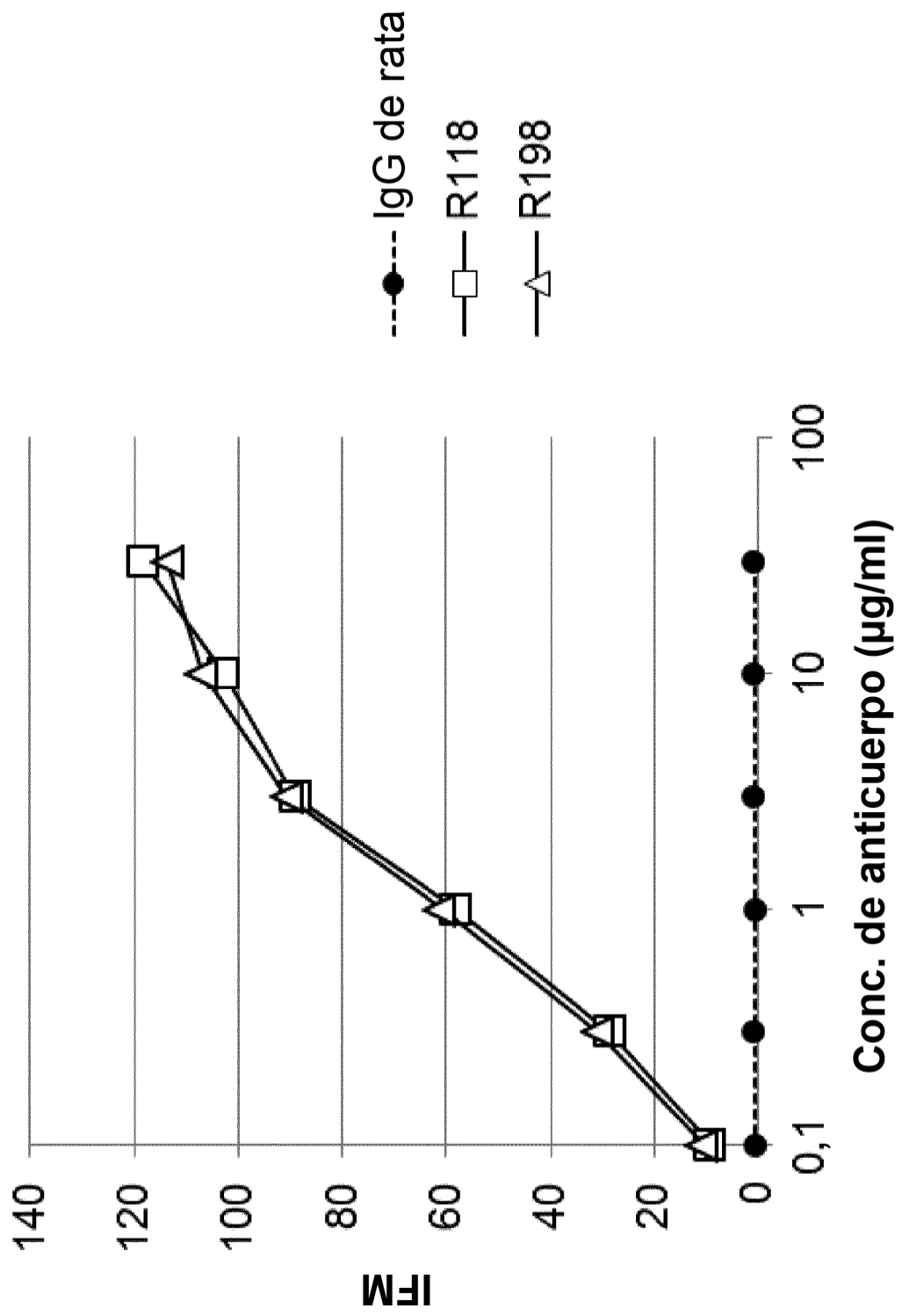


Figura 2

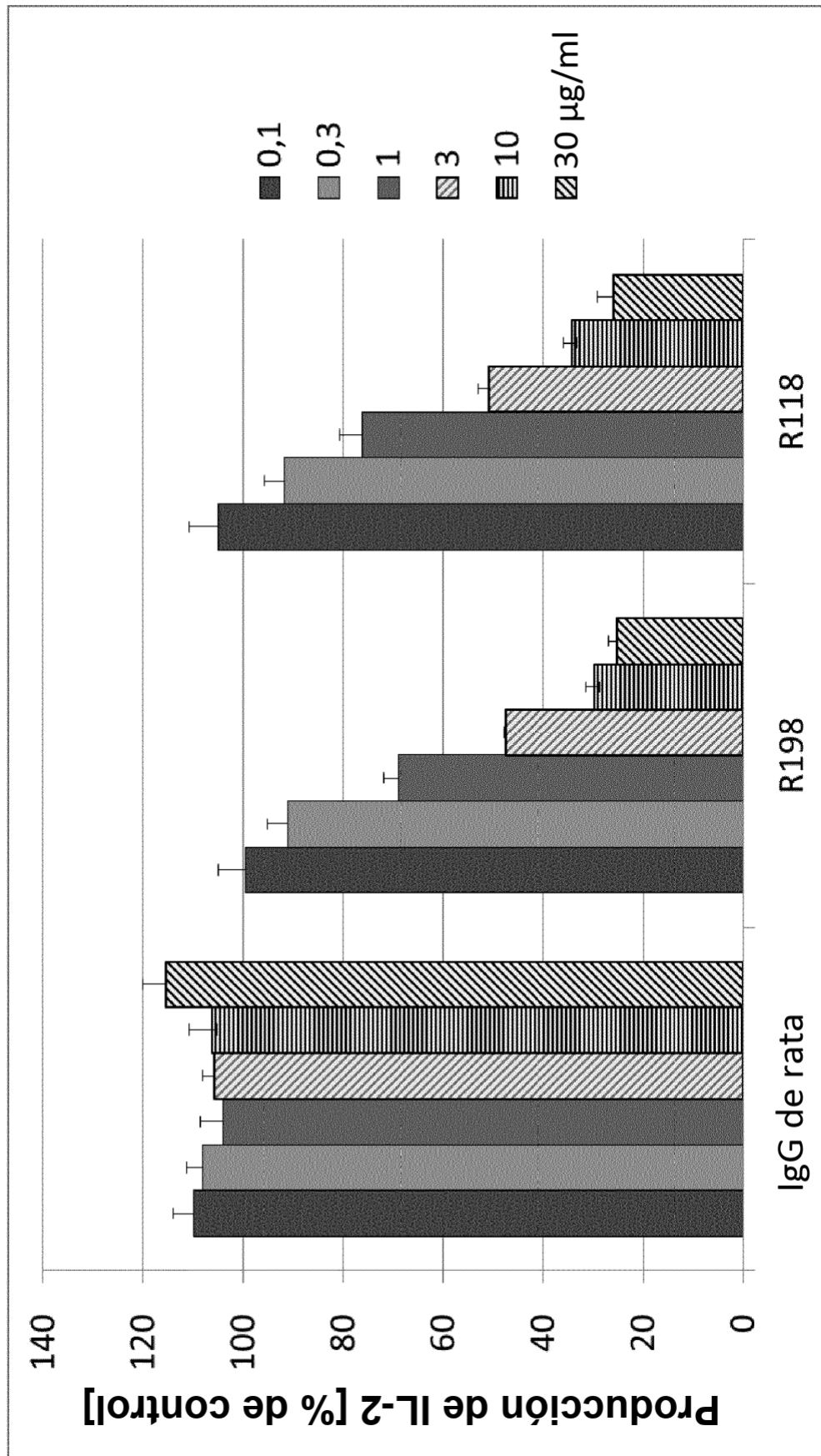


Figura 3

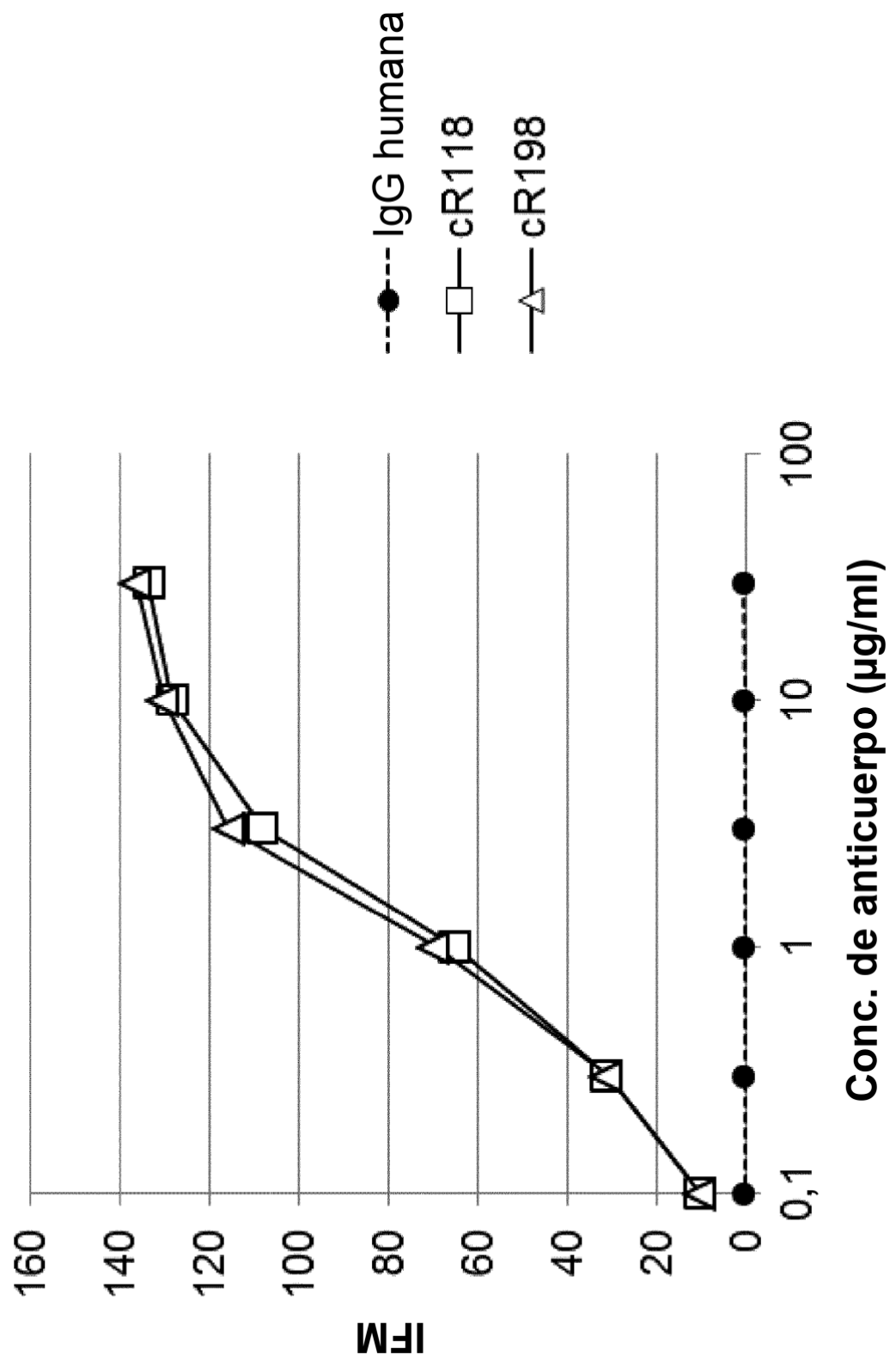


Figura 4

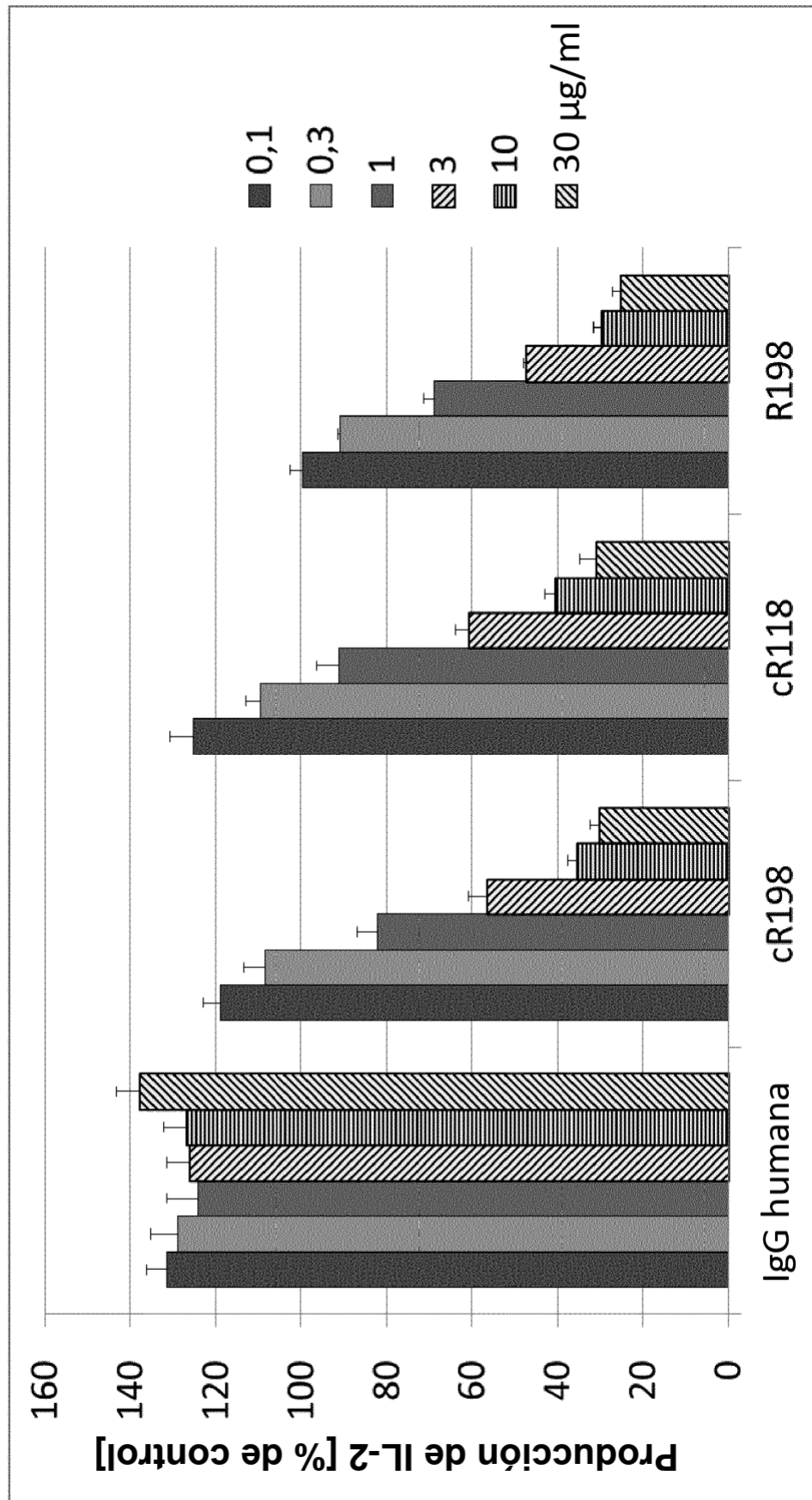


Figura 5

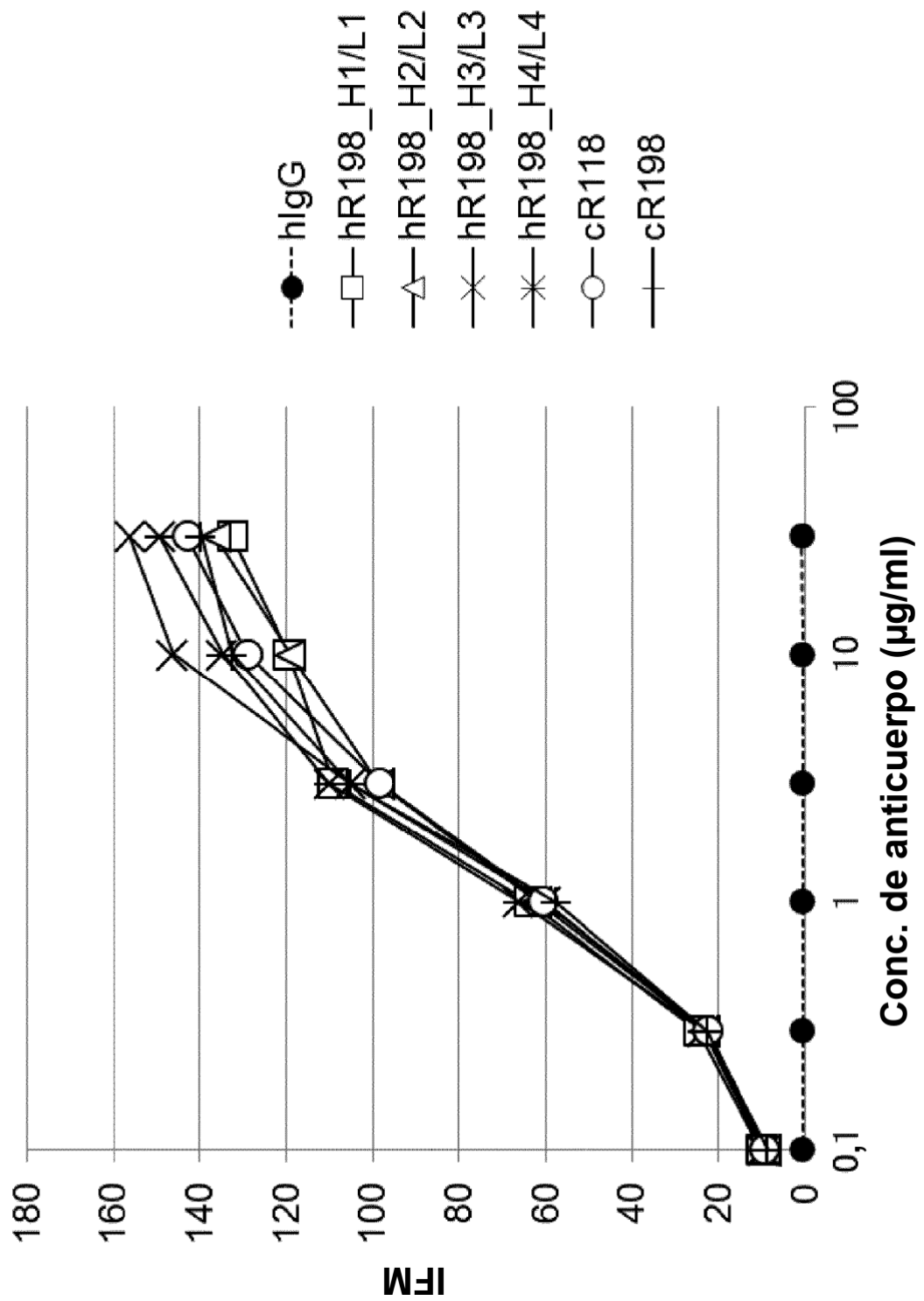


Figura 6

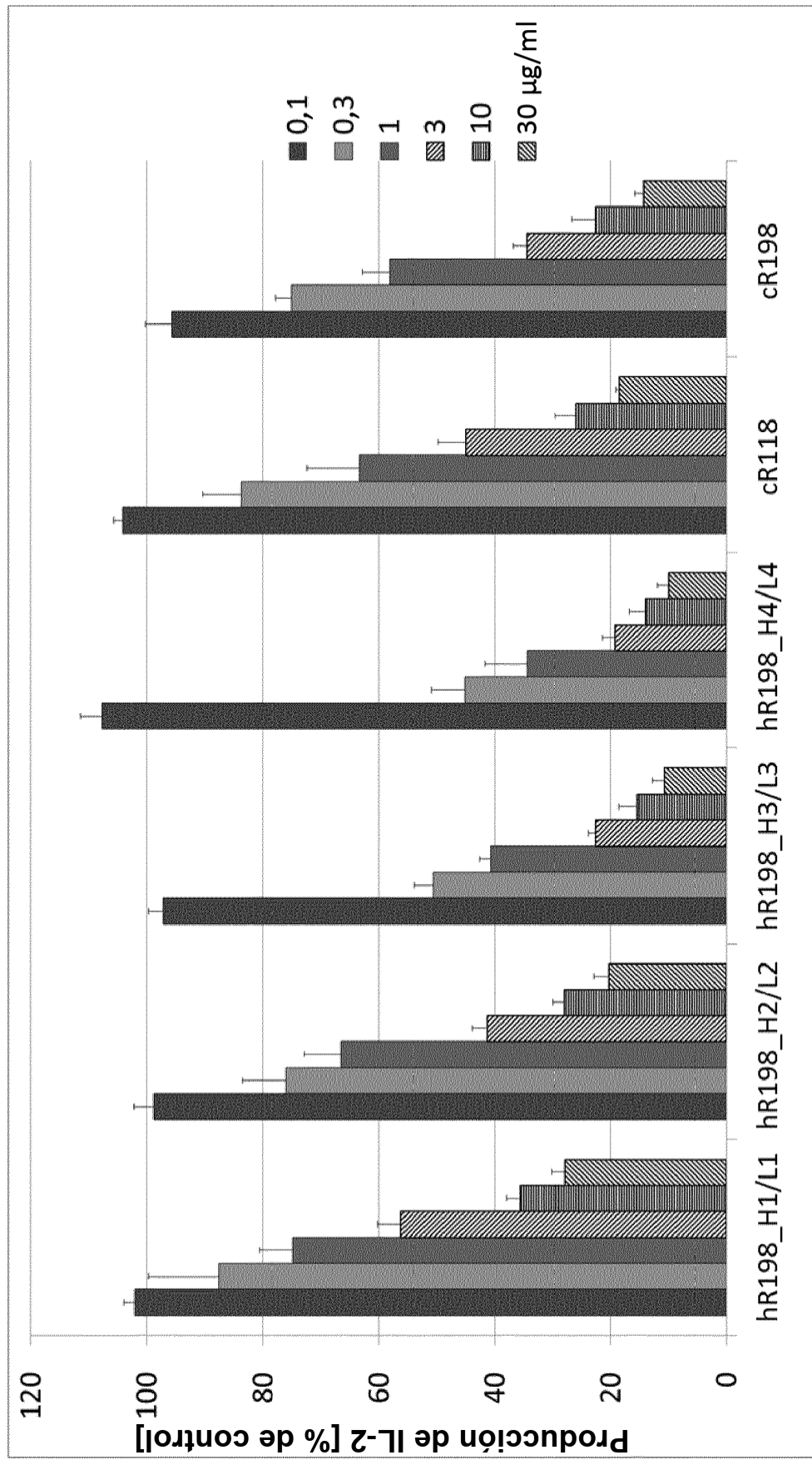
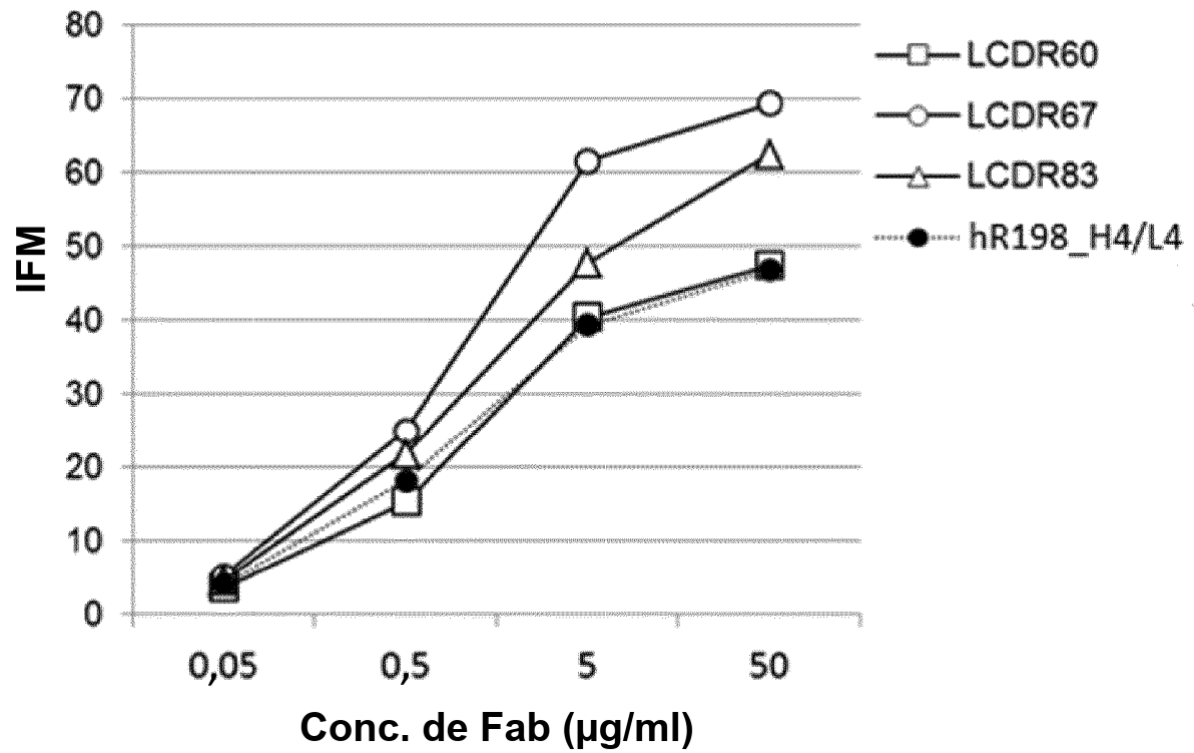
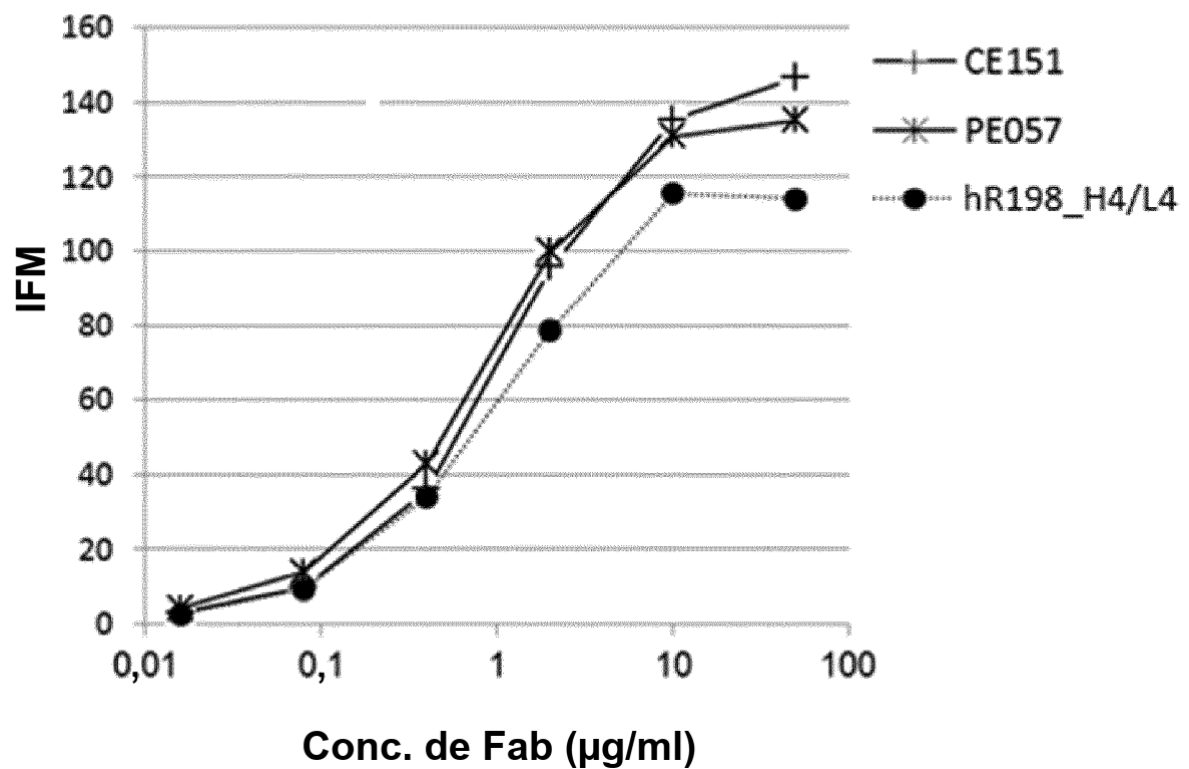


Figura 7

(A)



(B)



(C)

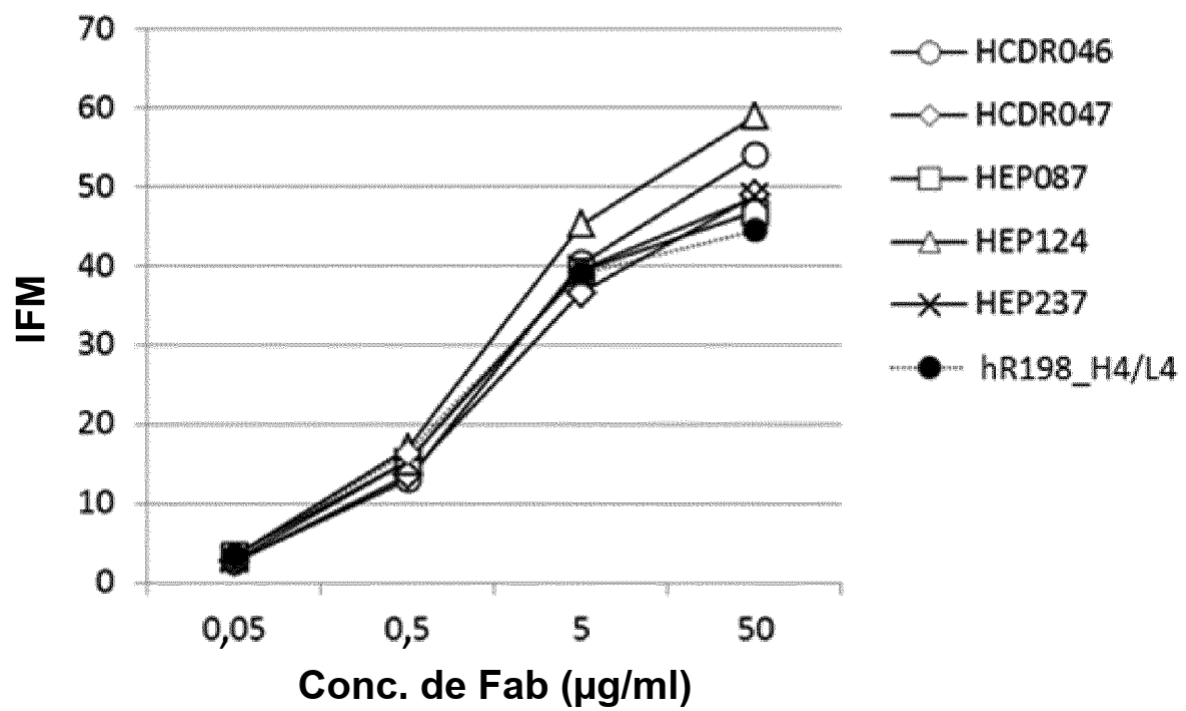


Figura 8

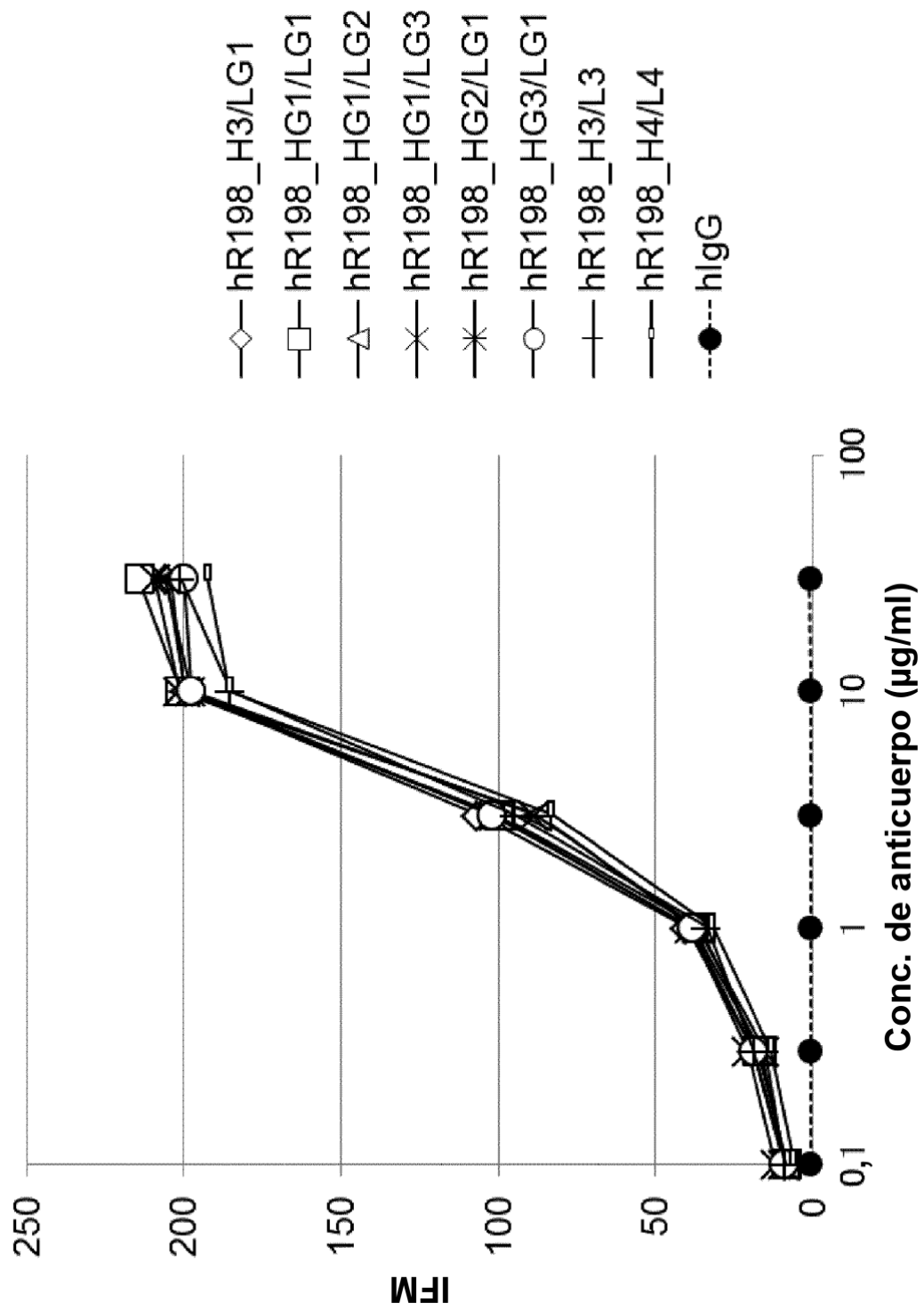


Figura 9

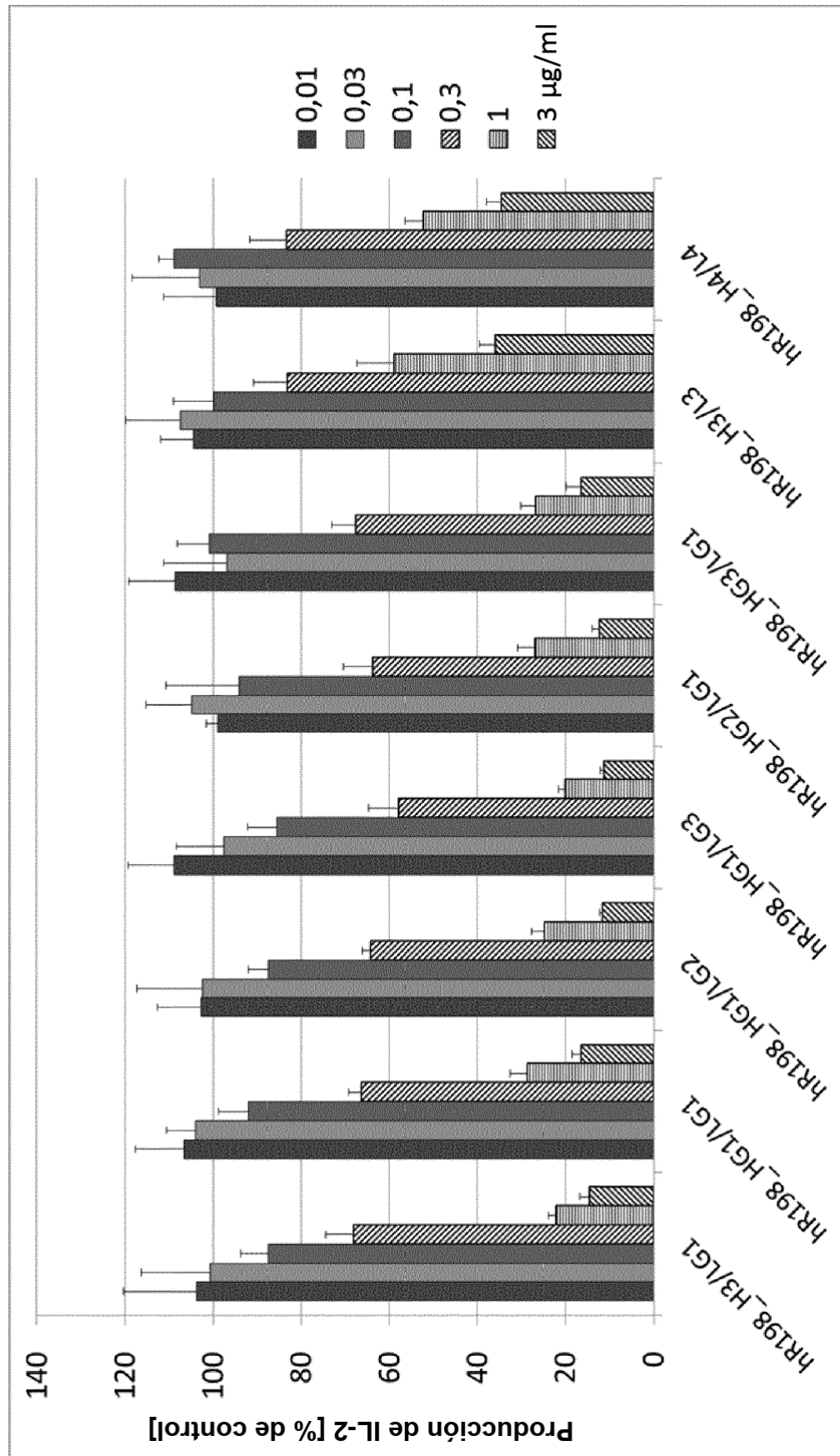


Figura 10

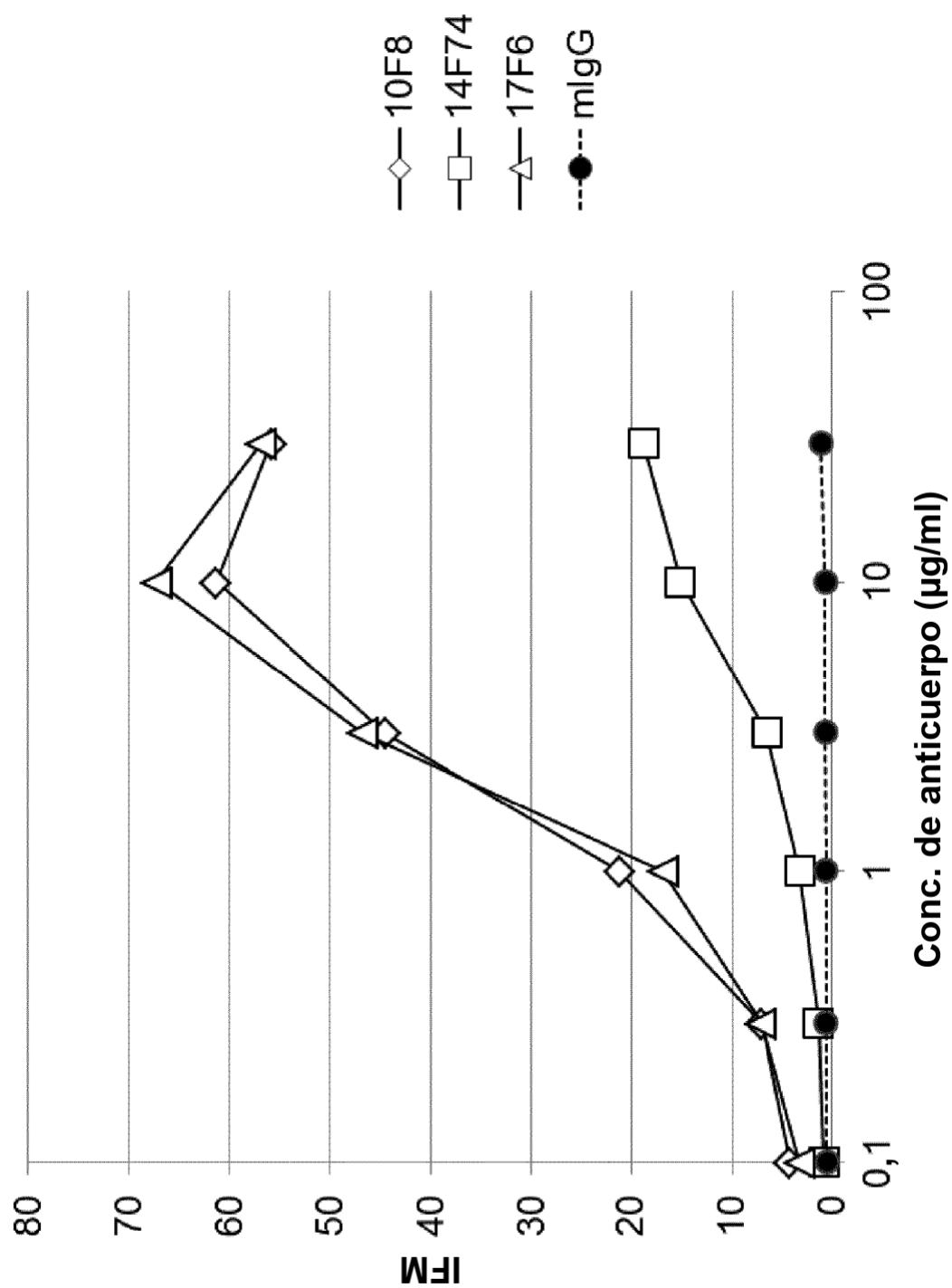


Figura 11

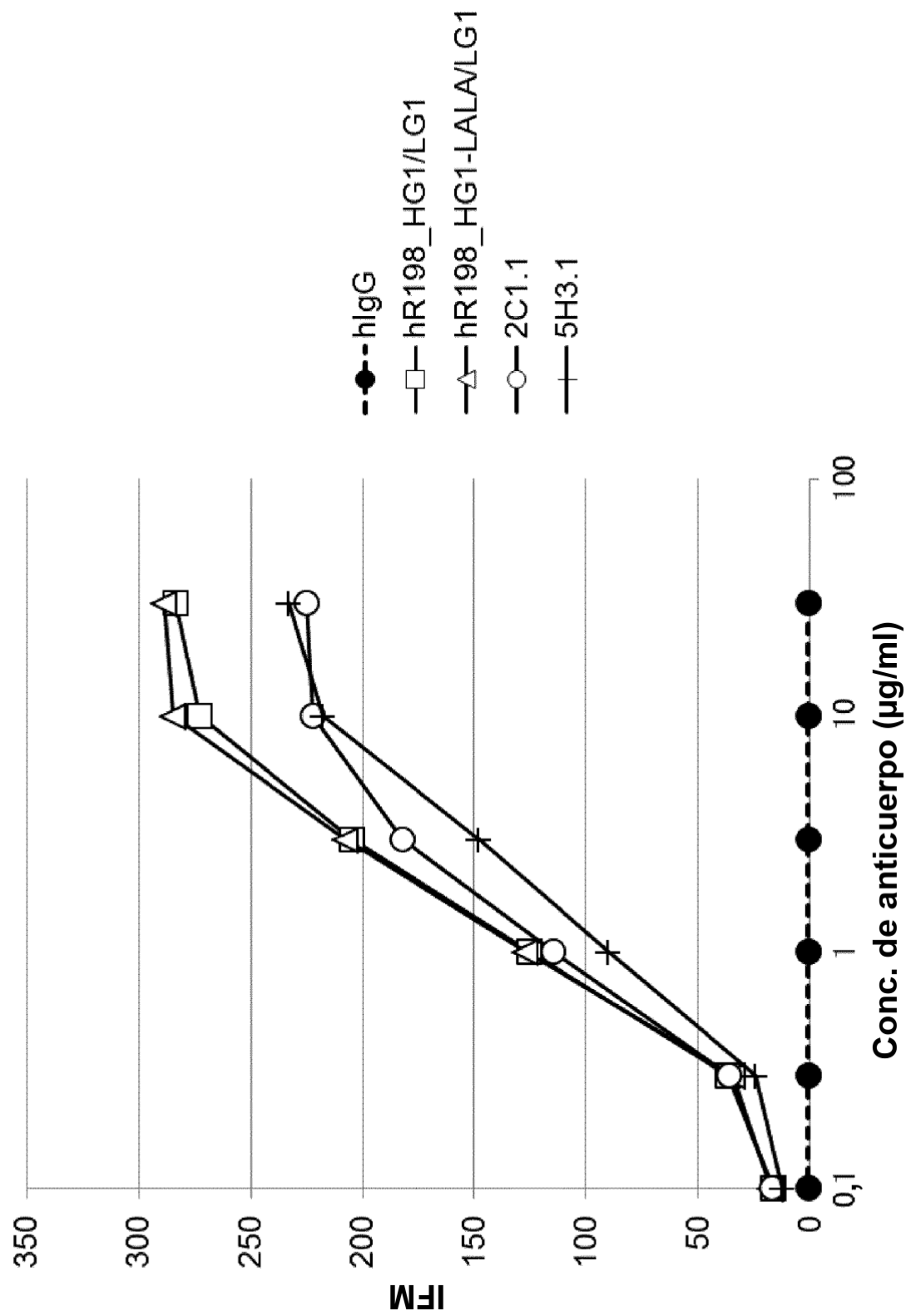


Figura 12

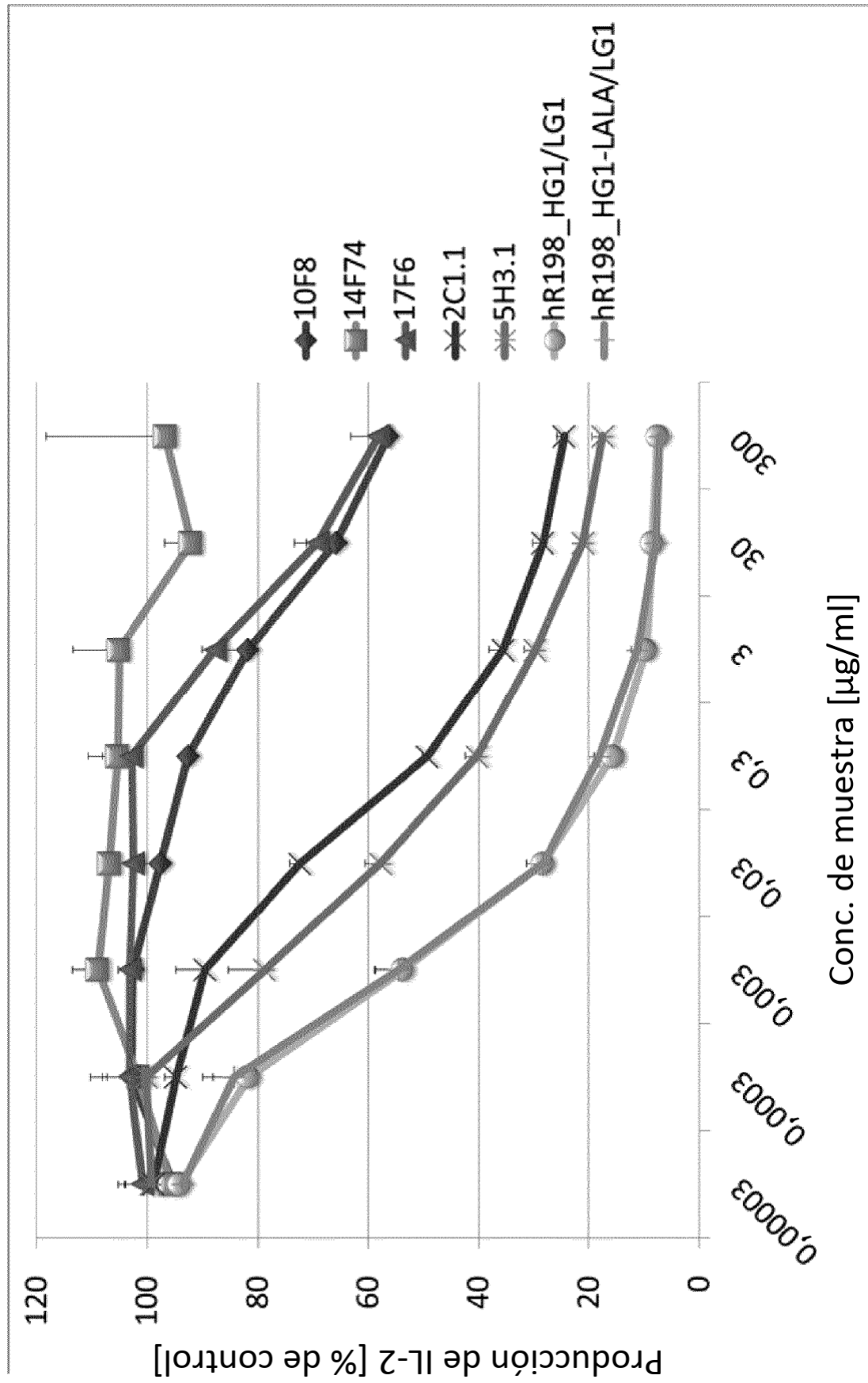


Figura 13

	Cl ₅₀ [ng/ml]	Cl ₈₀ [ng/ml]
10F8	>300000	>300000
14F74	>300000	>300000
17F6	>300000	>300000
2C1.1	279	>300000
5H3.1	83	60621
hR198_HG1/LG1	4	137
hR198_HG1-LALA/LG1	4	195

Figura 14

SEQ ID NO: 10: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de R118

ATGAAAATGACGACACCTGCTCAGTTCCTTGGGCTTCTGTTGCTCTGGTTTCCAGGTGCCAGGTGTGACATCCA
GTTGACCCAGTCTCCATCCACATTGCCTGCATCCCTGGGAGAGAGAGATCACCATCAGTTGCAGAGCAAGTCAGA
GTATTAGCAATAGTTTAAGCTGGTTTCAACAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACGCC TGATCTATTCTACATCC
ACTTTAGAATCTGGTGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCTCCATCACCAG
TCTTGAGTCTGAAGATTTTGCAATGTATTACTGTCTACAGTTTGCTACTTTTCCGGACACGTTTGGAAGTGGGA
CCAAACTGGAANTGAGACGGGCTGATGCTGCANCA

Secuencia señal (1-66), región variable (67-384)

SEQ ID NO: 11: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de R118

MKMTTPAQFLGLLLWFPGARCDIQLTQSPSTLPASLGERVTISCRASQSI SNLSWFQQKPDGTVKRLIYSTS
TLESGVPSRFSGSGSGTDYSLSITSLESEDFAMYYCLQFATFPDTFGTGTKLEXRRADAAX

Secuencia señal (1-22), región variable (23-128)

Figura 15

SEQ ID NO: 12: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de R118

ATGGAATGGAAGTGGGTCTTTCTCCTCCTCCTGTCAGTAAGTGCAGAAAGTCCAGTCCCAGGTCCAGCTGCAGCA
GTCTGGAGCGGAGCTGGCAAAGCCTGGCTCCTCAGTGAAGATTTCTGCAAGGCTTCCGGCTACACCGTCACCG
CCTATTATATAAGTTGGATAAGGCAGACGATTGGACAGGGCCTTGAGTATGTTGGATATATTGACATGGGAAAT
GGAAGGACTAACTACAATGCGAGGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTGGACAAATCCTCCAGCACAGCCTT
CATGCAACTCAGCAGCCTGACACCTGACGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGGGACTCCAAGTGGGGGGTTG
ATTACTGGGGCCAAGGAGTCATGGTCACAGTCTCCTCAGCTGAAACAACAGCCCCATCTGTCTATCCACTGGCT
CCTGGAAGTGGTCTCTCAAAAGTNA

Secuencia señal (1-57), región variable (58-408)

SEQ ID NO: 13: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de R118

MEWNWVFLLLSVTAEVQSQVQLQQSGAELAKPGSSVKISCKASGYTVTAYYISWIRQTIGQGLEYYVGYIDMGN
GRITNYNARFKGKATLTVDKSSSTAFMQLSSLTPDDSAVYYCARDNHWGVDYWGQGMVTVSSAETTAPSVYPLA
PGTASQKX

Secuencia señal (1-19), región variable (20-136)

Figura 16

SEQ ID NO: 14: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de R198

ATGAAAATGACGACACCTGCTCAGTTCCTTGGGCTTCTGTTGCTCTGGTTTCCAGGTGCCAGGTGTGACATCCA
GTTGACCCAGTCTCCATCCACATTGCCTGCATCTCTGGGAGAGAGAGATCACCATCAGTTGCAGAGCAAGTCAGA
GTATTGGCAATAGTTTAAGCTGGTTTCAGCAGAAACCAGATGGATCTGTTAAACGCCTGATCTACTCTACATCC
ACTTTAGAATCTGGTGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCTCCATCACCAG
TCTTGAGTCTGAAGATTTTGCAATGTATTACTGTCTACAGTTTGCTACTTATCCGGACACGTTTGGAAGTGGGA
CCAAACTGGAAGTGAAGACGGGCTGATGCTGCANCAACT

Secuencia señal (1-66), región variable (67-384)

SEQ ID NO: 15: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de R198

MKMTTPAQFLGLLLWFPGARCDIQLTQSPSTLPASLGERVTISCRASQSIGNSLSWFQQKPDGSVKRLIYSTS
TLESGVPSRFSGSGSGTDYSLITSLESEDFAMYYCLQFATYPDTFGTGTKLELRRADAAXT

Secuencia señal (1-22), región variable (23-128)

Figura 17

SEQ ID NO: 16: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de R198

ATGGAATGGAAGTGGGTCTTTCTCTTCCTCCTGTCAGTAACTGCAGAAAGTCCAGTCCCAGGTCCAGCTGCAGCA
GTCTGGAGCGGAGCTGGCAAAGCCTGGCTCCTCAATGAAGATTTCTGCAAGGCTTCCGGCTACCCCGTCACCA
GCTATTATATAAGTTGGATAAAGCAGACGACTGGACAGGGCCTTGAGTATATTGGATATGTTGACATGGGAAAT
GGACGGACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTT
CATGCAACTCAGCAGCCTGACACCTGACGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGGGACTCCAAGTGGGGGGTTG
ATTACTGGGGCCAAGGAGTCATGGTCACAGTCTCCTCAGCTGAAACAACAGCCCCATCTGTCTATCCACTGGCT
CCTGGAAGTGTCTCTCAAAGTAACNCC

Secuencia señal (1-57), región variable (58-408)

SEQ ID NO: 17: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de R198

MEWNWVFLFLLSVTAEVQSQVQLQQSGAELAKPGSSMKISCKASGYPVTSYYISWIKQTTGQGLEFIGYVDMGN
GRITNYNEKFKGKATLTVDKSSSTAFMQLSSLTPDDSAVYYCARDNHWGVQVMTVSSAETTPSVYPLA
PGTALKSNX

Secuencia señal (1-19), región variable (20-136)

Figura 18

SEQ ID NO: 22: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de cR118 quimérico humano

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGACATCCAGTTGAC
CCAGTCTCCATCCACATTGCCTGCATCCCTGGGAGAGAGAGTCAACATCAGTTGCAGAGCAAGTCAGAGTATTA
GCAATAGTTTAAGCTGGTTTCAACAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACGCCTGATCTATTCTACATCCACTTTA
GAATCTGGTGTCCCATCAAGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCTCCATCACCAGTCTTGA
GTCTGAAGATTTTGCAATGTATTACTGTCTACAGTTTGCTACTTTTCCGGACACGTTTGGAACTGGGACCAAAC
TGGAACTGAGACGGGCTGTGGCCGCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
ACCGCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAACGC
CCTGCAGTCCGGGAAGTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Secuencia señal (1-60), región variable (61-378), región constante (379-702)

SEQ ID NO: 23: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de cR118 quimérico humano

MVLQTQVFISLLWISGAYGDIQLTQSPSTLPASLGERVTISCRASQSISSLSWFFQQKPDGTVKRLIYSTSTL
ESGVPSRFSGSGSGTDYLSITSLESEDFAMYYCLQFATFPDTFGTGTKLELRRVAAPSVEIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

Secuencia señal (1-20), región variable (21-126), región constante (127-234)

Figura 19

SEQ ID NO: 24: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de cR198 quimérico humano

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGACATCCAGTTGAC
CCAGTCTCCATCCACATTGCCTGCATCTCTGGGAGAGAGAGTCAACATCAGTTGCAGAGCAAGTCAGAGTATTG
GCAATAGTTTAAAGCTGGTTTCAGCAGAAACCAGATGGATCTGTTAAACGCCTGATCTACTCTACATCCACTTTA
GAATCTGGTGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCTCCATCACCAGTCTTGA
GTCTGAAGATTTTGCAATGTATTACTGTCTACAGTTTGCTACTTATCCGGACACGTTTGGAACTGGGACCAAAC
TGGAAGTGAAGACGGGCTGTGGCCGCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
ACCGCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAACGC
CCTGCAGTCCGGGAAGTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Secuencia señal (1-60), región variable (61-378), región constante (379-702)

SEQ ID NO: 25: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de cR198 quimérico humano

MVLQTQVFISLLWISGAYGDIQLTQSPSTLPASLGERVTISCRASQSIGNSLSWFQQKPDGSVKRLIYSTSTL
ESGVPSRFSGSGSGTDYSLISLSEDFAMYYCLQFATYPDTFGTGTKLELRRVAAPSVEIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

Secuencia señal (1-20), región variable (21-126), región constante (127-234)

Figura 20

SEQ ID NO: 26: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de cR118 quimérico humano

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTCCAGCTGCAGCA
GTCTGGAGCGGAGCTGGCAAAGCCTGGCTCCTCAGTGAAGATTTCTGCAAGGCTTCCGGCTACACCGTCACCG
CCTATTATATAAGTTGGATAAGGCAGACGATTGGACAGGGCCTTGAGTATGTTGGATATATTGACATGGGAAAT
GGAAGGACTAACTACAATGCGAGGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTGGACAAATCCTCCAGCACAGCCTT
CATGCAACTCAGCAGCCTGACACCTGACGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGGGACTCCAAGTGGGGGGTTG
ATTACTGGGGCCAAGGAGTCATGGTCACAGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCCGCTGTCCTGCAGTCCTCAGGAC
TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACC
CTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGA
TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
GGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACACAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCCCTGCTGGACTCCG
ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Secuencia señal (1-57), región variable (58-408), región constante (409-1398)

SEQ ID NO: 27: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de cR118 quimérico humano

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLQQSGAELAKPGSSVKISCKASGYTVTAYYISWIRQTIGQGLETVGYIDMGN
GRITNYNARFKGKATLTVDKSSSTAFMQLSSLTPDDSAVYYCARDNHWGVDYWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-136), región constante (137-466)

Figura 21

SEQ ID NO: 28: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de cR198 quimérico humano

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTCCAGCTGCAGCA
GTCTGGAGCGGAGCTGGCAAAGCCTGGCTCCTCAATGAAGATTTCTGCAAGGCTTCCGGCTACCCCGTCACCA
GCTATTATATAAGTTGGATAAAGCAGACGACTGGACAGGGCCTTGAGTATATTGGATATGTTGACATGGGAAAT
GGACGGACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTT
CATGCAACTCAGCAGCCTGACACCTGACGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGGGACTCCAACCTGGGGGGTTG
ATTACTGGGGCCAAGGAGTCATGGTCACAGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
GACCGTGAGCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCCGCTGTCTGTCAGTCCTCAGGAC
TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCACATCTGCAACGTGAAT
CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACC
CTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGA
TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
GGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACACAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCG
ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Secuencia señal (1-57), región variable (58-408), región constante (409-1398)

SEQ ID NO: 29: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de cR198 quimérico humano

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLQQSGAELAKPGSSMKISCKASGYPVTSYYISWIKQTTGQGLEIGYVDMGN
GRTNYNEKFKGKATLTVDKSSSTAFMQLSSLTPDDSAVYYCARDNHWGVDYWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-136), región constante (137-466)

Figura 22

SEQ ID NO: 30: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_L1

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGCTGAC
CCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCG
GCAACAGCCTGAGCTGGTTCCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCCCCAAGCGGCTGATCTACAGCACCAGCACCCCTG
GAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACAATCAGCAGCCTGCA
GCCCCGAGGACTTCGCCATGTACTACTGCCTGCAGTTCGCCACCTACCCCGACACCTTTGGCCAGGGCACCAAGG
TGGAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
ACCGCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAACGC
CCTGCAGTCCGGGAACCTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Secuencia señal (1-60), región variable (61-378), región constante (379-702)

SEQ ID NO: 31: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_L1

MVLQTQVFISLLWISGAYGDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGNSLSWFQQKPGKAPKRLIYSTSTL
ESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAMYYCLQFATYPDTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

Secuencia señal (1-20), región variable (21-126), región constante (127-234)

Figura 23

SEQ ID NO: 32: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_L2

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGCTGAC
CCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCG
GCAACAGCCTGAGCTGGTTCCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCGTGAAGCGGCTGATCTACAGCACCAGCACCCCTG
GAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACAATCAGCAGCCTGCA
GCCCCGAGGACTTCGCCATGTACTACTGCCTGCAGTTCGCCACCTACCCCGACACCTTTGGCCAGGGCACCAAGG
TGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
ACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAACGC
CCTGCAGTCCGGGAACCTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Secuencia señal (1-60), región variable (61-378), región constante (379-702)

SEQ ID NO: 33: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_L2

MVLQTQVFISLLWISGAYGDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGNSLSWFQQKPGKAVKRLIYSTSTL
ESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAMYYCLQFATYPDTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

Secuencia señal (1-20), región variable (21-126), región constante (127-234)

Figura 24

SEQ ID NO: 34: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_L3

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGCTGAC
CCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCG
GCAACAGCCTGAGCTGGTTCCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCCCCAAGCGGCTGATCTACAGCACCAGCACCCCTG
GAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACAATCAGCAGCCTGCA
GCCCCGAGGACTTCGCCATGTACTACTGCCTGCAGTTCGCCACCTTCCCCGACACCTTTGGCCAGGGCACCAAGG
TGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
ACCGCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAACGC
CCTGCAGTCCGGGAACCTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Secuencia señal (1-60), región variable (61-378), región constante (379-702)

SEQ ID NO: 35: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_L3

MVLQTQVFISLLWISGAYGDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGNSLSWFQQKPGKAPKRLIYSTSTL
ESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAMYYCLQFATFPDTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

Secuencia señal (1-20), región variable (21-126), región constante (127-234)

Figura 25

SEQ ID NO: 36: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_L4

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGCTGAC
CCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCG
GCAACAGCCTGAGCTGGTTCCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCGTGAAGCGGCTGATCTACAGCACCAGCACCCCTG
GAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACAATCAGCAGCCTGCA
GCCCCGAGGACTTCGCCATGTACTACTGCCTGCAGTTCGCCACCTTCCCCGACACCTTTGGCCAGGGCACCAAGG
TGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
ACCGCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGC
CCTGCAGTCCGGGAACCTCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Secuencia señal (1-60), región variable (61-378), región constante (379-702)

SEQ ID NO: 37: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_L4

MVLQTQVFISLLWISGAYGDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGNSLSWFQQKPGKAVKRLIYSTSTL
ESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAMYYCLQFATFPDTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

Secuencia señal (1-20), región variable (21-126), región constante (127-234)

Figura 26

SEQ ID NO: 38: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_H1

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCA
GCTACTACATCAGCTGGGTGAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATACATCGGCTATGTGGACATGGGCAAC
GGCCGGACCAACTACAACGAGAAGTTCAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
CATGGAAGTGAAGCAGCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGTGG
ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
GACCGTGAAGTGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCTGTCAGTCTCTCAGGAC
TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACC
CTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGA
TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
GGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACACAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCCGTGTCTGGACTCCG
ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Secuencia señal (1-57), región variable (58-408), región constante (409-1398)

SEQ ID NO: 39: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_H1

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYPVTSYYISWVRQAPGQGLEIGYVDMGN
GRTNYNEKFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDNHWGVDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-136), región constante (137-466)

Figura 27

SEQ ID NO: 40: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_H2

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCA
GCTACTACATCAGCTGGATCAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATACATCGGCTATGTGGACATGGGCAAC
GGCCGGACCAACTACAACGAGAAGTTCAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
CATGGAAGTGAAGCAGCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGTGG
ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
GACCGTGAAGTGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCTCTGCAGTCTCTCAGGAC
TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACC
CTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGA
TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
GGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGTCTCCAACAAAG
CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACACAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCCGTGTCTGGACTCCG
ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Secuencia señal (1-57), región variable (58-408), región constante (409-1398)

SEQ ID NO: 41: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_H2

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYPVTSYYISWIRQAPGQGLEIGYVDMGN
GRTNYNEKFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDNHWGVDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVPEPKCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-136), región constante (137-466)

Figura 28

SEQ ID NO: 42: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_H3

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCG
CCTACTACATCAGCTGGGTGAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATACGTGGGTACATCGACATGGGCAAC
GGCCGGACCAACTACAACGCCCAGTTTAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
CATGGAAGTGAAGCAGCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGTGG
ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGTGCTTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCGAGCGGCGTGACACCTTCCCCGCTGTCCTGCAGTCCTCAGGAC
TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACC
CTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGA
TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
GGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCAAGGTGTACACCCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCAGAACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGTGGACTCCG
ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Secuencia señal (1-57), región variable (58-408), región constante (409-1398)

SEQ ID NO: 43: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_H3

MKHLWFFLLLVAAPRWLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYPVTAYYISWVRQAPGQGLEYYVGYIDMGN
GRTNYNARFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDNHWGVDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVKPKCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-136), región constante (137-466)

Figura 29

SEQ ID NO: 44: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_H4

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCG
CCTACTACATCAGCTGGATCAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATACGTGGGTACATCGACATGGGCAAC
GGCCGGACCAACTACAACGCCCGGTTTAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
CATGGAAGTGAAGCAGCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGTGG
ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCTGTCAGTCTCTCAGGAC
TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACC
CTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGA
TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
GGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACACAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCCGTGTCTGGACTCCG
ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Secuencia señal (1-57), región variable (58-408), región constante (409-1398)

SEQ ID NO: 45: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_H4

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYPVTAYYISWIRQAPGQGLE YVGYIDMGN
GRITNYNARFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARD SNWGV D YWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-136), región constante (137-466)

Figura 30

SEQ ID NO: 55: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_LG1

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGCTGAC
CCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCG
GCGGCAGCCTGAGCTGGTTCCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCCCCAAGCGGCTGATCTACAGCACCAGCACCCCTG
GAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACAATCAGCAGCCTGCA
GCCCCGAGGACTTCGCCATGTACTACTGCCTGCAGTTCGCCATCTTCCCCGACAGCTTTGGCCAGGGCACCAAGG
TGGAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
ACCGCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGC
CCTGCAGTCCGGGAACCTCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Secuencia señal (1-60), región variable (61-378), región constante (379-702)

SEQ ID NO: 56: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_LG1

MVLQTQVFISLLWISGAYGDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGGSLSWFQQKPGKAPKRLIYSTSTL
ESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAMYYCLQFAIFPDSFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

Secuencia señal (1-20), región variable (21-126), región constante (127-234)

Figura 31

SEQ ID NO: 57: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_LG2

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGCTGAC
CCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCACGCCAGCCAGAACATCG
GCGGCAGCCTGAGCTGGTTCCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCCCCAAGCGGCTGATCTACCTGACCAGCACCTG
GACTGGGGCGTGCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACAATCAGCAGCCTGCA
GCCCCGAGGACTTCGCCATGTACTACTGCCTGCAGTTCGCCATCTTCCCCGACAGCTTTGGCCAGGGCACCAAGG
TGGAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
ACCGCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATACTTCTACCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAACGC
CCTGCAGTCCGGGAACCTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Secuencia señal (1-60), región variable (61-378), región constante (379-702)

SEQ ID NO: 58: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_LG2

MVLQTQVFISLLWISGAYGDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNIGGSLSWFQQKPGKAPKRLLIYLTSTL
DWGVPSRFSGSGSGTDYLTISLQPEDFAMYYCLQFAIFPDSFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

Secuencia señal (1-20), región variable (21-126), región constante (127-234)

Figura 32

SEQ ID NO: 59: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de tipo hR198_LG3

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGCTGAC
CCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCACGCCAGCCGGAACATCG
GCGGCAGCCTGAGCTGGTTCCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCCCCAAGCGGCTGATCTACCTGACCAGCAGCCTG
GACTGGGGCGTGCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACAATCAGCAGCCTGCA
GCCCCGAGGACTTCGCCATGTACTACTGCCTGCAGTTCGCCATCTTCCCCGACAGCTTTGGCCAGGGCACCAAGG
TGGAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
ACCGCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATACTTCTACCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAACGC
CCTGCAGTCCGGGAACCTCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Secuencia señal (1-60), región variable (61-378), región constante (379-702)

SEQ ID NO: 60: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de tipo hR198_LG3

MVLQTQVFISLLWISGAYGDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRNIGGSLSWFQQKPGKAPKRLIYLTSSL
DWGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAMYYCLQFAIFPDSFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

Secuencia señal (1-20), región variable (21-126), región constante (127-234)

Figura 33

SEQ ID NO: 61: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_HG1

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCG
CCTACTACATCAGCTGGGTGAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATACGTGGGTACATCGACATGGGCAAC
GGCCGGACCGACTACAACGCCCCGGTTTAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
CATGGAAGTGAAGCAGCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGCCG
ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCTGTCAGTCTCTCAGGAC
TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCCACC
CTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGA
TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
GGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACACAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCCGTGTCTGGACTCCG
ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Secuencia señal (1-57), región variable (58-408), región constante (409-1398)

SEQ ID NO: 62: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_HG1

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYPTAYYISWVRQAPGQGLE YVGYIDMGN
GRTDYNARFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARD SNWGADYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-136), región constante (137-466)

Figura 34

SEQ ID NO: 63: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_HG2

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCATCACCG
CCTACTACATCAGCTGGGTGAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCTGGAATACGTGGGCTACATCGACATGGGCAAC
GGCCGGACCGACTACAACGGCCGGTTTAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
CATGGAAGTGAAGCAGCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGCCG
ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCTGTCAGTCTCAGGAC
TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACC
CTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCCTCATGA
TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
GGTCAGCGTCTCACCCTGCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACACAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCG
ACGGCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Secuencia señal (1-57), región variable (58-408), región constante (409-1398)

SEQ ID NO: 64: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_HG2

MKHLWFFLLLVAAAPRWLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPI TAYYISWVRQAPGQGLE YVGYIDMGN
GR TDYNGR FKG RATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARD SNWGADYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-136), región constante (137-466)

Figura 35

SEQ ID NO: 65: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_HG3

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGCTCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCATCACCG
CCTACTACATCAGCTGGGTTCAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATACGTGGGCTACATCGACATGGGCAAC
GGCCGGACCGACTACAACATGCGGTTTAAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCAGCCTA
CATGGAAGTGCAGCAGCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGCCG
ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCTGTCAGTCTCAGGAC
TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACC
CTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCCTCATGA
TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
GGTCAGCGTCTCACCCTGCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACACAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCCGTGTGGACTCCG
ACGGCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Secuencia señal (1-57), región variable (58-408), región constante (409-1398)

SEQ ID NO: 66: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_HG3

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPITAYYISWVRQAPGQGLE YVGYIDMGN
GRTDYNMRFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDNWDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPKPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-136), región constante (137-466)

Figura 36

SEQ ID NO: 67: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_H4-LALA

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCG
CCTACTACATCAGCTGGATCAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATACGTGGGCTACATCGACATGGGCAAC
GGCCGGACCAACTACAACGCCCGGTTTAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
CATGGAAGTGAAGCAGCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGTGG
ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCTTGCAGTCCTCAGGAC
TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACC
CTGCCCAGCACCTGAAGCCGCGGGGGGACCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGA
TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
GGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCAAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCCGTGTGGACTCCG
ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Secuencia señal (1-57), región variable (58-408), región constante (409-1398)

SEQ ID NO: 68: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_H4-LALA

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYPTAYYISWIRQAPGQGLETVGYIDMGN
GRITNYNARFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDNHWGVDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-136), región constante (137-466)

Figura 37

SEQ ID NO: 69: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de tipo hR198_HG1-LALA

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCG
CCTACTACATCAGCTGGGTGAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATACGTGGGTACATCGACATGGGCAAC
GGCCGGACCGACTACAACGCCCCGGTTTAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
CATGGAAGTGAAGCAGCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGCCG
ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCTTGCAGTCTCTCAGGAC
TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCC
CTGCCCAGCACCTGAAGCCGCGGGGGGACCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGA
TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
GGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACACAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCCGTGTCTGGACTCCG
ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Secuencia señal (1-57), región variable (58-408), región constante (409-1398)

SEQ ID NO: 70: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de tipo hR198_HG1-LALA

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYPVTAYYISWVRQAPGQGLE YVGYIDMGN
GRTDYNARFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARD SNWGADYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-136), región constante (137-466)

Figura 38

Cadena L	SEQ ID	CDRL1	SEQ ID	CDRL2	SEQ ID	CDRL3	SEQ ID
cR118_L	NO: 23	RASQSIGNSL	NO: 116	STSTLES		LQFATFPDT	NO: 99
cR198_L	NO: 25	RASQSIGNSL	NO: 92	STSTLES		LQFATYPDT	NO: 100
hR198_L1	NO: 31	RASQSIGNSL	NO: 92	STSTLES		LQFATYPDT	NO: 100
hR198_L2	NO: 33	RASQSIGNSL	NO: 92	STSTLES		LQFATYPDT	NO: 100
hR198_L3	NO: 35	RASQSIGNSL	NO: 92	STSTLES		LQFATFPDT	NO: 99
hR198_L4	NO: 37	RASQSIGNSL	NO: 92	STSTLES		LQFATFPDT	NO: 99
hR198_LG1	NO: 56	RASQSIGGSL	NO: 93	STSTLES		LQFAIFPDS	NO: 101
hR198_LG2	NO: 58	HASQNIGGSL	NO: 94	LTSTLDW		LQFAIFPDS	NO: 101
hR198_LG3	NO: 60	HASRNIGGSL	NO: 95	LTSSLDW		LQFAIFPDS	NO: 101

Cadena H	SEQ ID	CDRH1	SEQ ID	CDRH2	SEQ ID	CDRH3	SEQ ID
cR118_H	NO: 27	AYYIS	NO: 102	YIDMGNGRTNARNFKG	NO: 104	DSNWGVY	NO: 109
cR198_H	NO: 29	SYYSIS	NO: 103	YVDMGNGRTNINEKFKG	NO: 105	DSNWGVY	NO: 109
hR198_H1	NO: 39	SYYSIS	NO: 103	YVDMGNGRTNINEKFKG	NO: 105	DSNWGVY	NO: 109
hR198_H2	NO: 41	SYYSIS	NO: 103	YVDMGNGRTNINEKFKG	NO: 105	DSNWGVY	NO: 109
hR198_H3	NO: 43	AYYIS	NO: 102	YIDMGNGRTNARNFKG	NO: 104	DSNWGVY	NO: 109
hR198_H4	NO: 45	AYYIS	NO: 102	YIDMGNGRTNARNFKG	NO: 104	DSNWGVY	NO: 109
hR198_HG1	NO: 62	AYYIS	NO: 102	YIDMGNGRTDYNARNFKG	NO: 106	DSNWGADY	NO: 110
hR198_HG2	NO: 64	AYYIS	NO: 102	YIDMGNGRTDYNARNFKG	NO: 107	DSNWGADY	NO: 110
hR198_HG3	NO: 66	AYYIS	NO: 102	YIDMGNGRTDYNMRFKG	NO: 108	DSNWGADY	NO: 110
hR198_H4-LALA	NO: 68	AYYIS	NO: 102	YIDMGNGRTNARNFKG	NO: 104	DSNWGVY	NO: 109
hR198_HG1-LALA	NO: 70	AYYIS	NO: 102	YIDMGNGRTDYNARNFKG	NO: 106	DSNWGADY	NO: 110

Figura 39

SEQ ID NO: 72: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada del anticuerpo 2C1.1

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGCAGCA
GTGGGGAGCCGGCCTGCTGAAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCTGTGTACGGAGGCAGCTTCAGCG
GCTACTACTGGTCCTGGATCCGGCAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGCGAGATCGACCACAGC GGC
AGCACCAACTACAACCCCGCCCTGAAGTCCCGGCTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTTCAGCCT
GAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAGCCGGCAGCGGCGGCTACGAGG
ATTGGTTCGATCCTTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTCAGCTCAGCCAGCACCAAGGGCCCTTCCGTGTTC
CCTCTGGCCCCCTTGTAGCCGTTCCACCAGCGAGTCCACCGCCGCCCTTGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCC
TGAGCCTGTGACCGTGAGCTGGAACCTCCGGAGCCCTTACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGT
CCAGCGGCCCTTACTCCCTGAGCTCCGTGGTGACCGTGCTAGCTCCAACCTTCGGCACCCAAACCTACACCTGT
AACGTGGACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGCGTAAGTGTTGTGTGGAGTGTCTCTCC
TTGTCCTGCCCTCCTGTGGCCGGACCTTCCGTGTTCTTTTCCCTCCTAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCA
GCCGTACCCCTGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCTGAGGTGCAGTTCAACTGGTAC
GTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGTGAGGAGCAATTCAACAGCACCTTCCGTGTGGT
GTCCGTGCTTACCGTGGTGCACCAAGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGAGCAACAAGGGAC
TTCCTGCCCCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGACCAAGGGCCAACCTCGTGAGCCTCAAGTGACACCCTTCCCT
CCTAGCCGTGAGGAGATGACCAAGAACCAAGTGTCCTTACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACAT
CGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGACAACCTGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCTATGCTTGACAGCGACG
GCTCCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGTTGGCAACAAGGCAACGTGTTTCAGCTGTTCC
GTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAAAAGAGCCTTTCCTGAGCCCTGGAAAG

Secuencia señal (1-57), región variable (58-417), región constante (418-1395)

SEQ ID NO: 73: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 2C1.1

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKLEWIGEIDHSG
STNYPALKSRLTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARAGSGGYEDWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVF
PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFGTQTYTC
NVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLTP
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCS
VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-139), región constante (140-465)

Figura 40

SEQ ID NO: 74: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera del anticuerpo 2C1.1

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCCAGTCCGTGCTGAC
CCAGCCTCCTTCCGTGTCTGGCGCCCCTGGCCAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCAGCAACATCG
GAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGTTCCCCCGGACCGACCCCAAGCTGCTGATCTACGTGTACAAC
ATCCGGCCCAGCGGCGTGCCCGACCGTTTTCTGGCAGCAGAAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCCATCACC GG
CCTGCAGACCGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCCAGAGCTACGACAGCAGCCTGAGCGGCGTGGTGTTCGGCG
GAGGCACCAAGCTGACAGTGCTGGGCCAGCCCAAGGCCAACCCACCGTGACCCGTGTTCCCCCAAGCAGCGAG
GAACTGCAGGCCAACAAAGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCTGGCGCCGTGACAGTGCCCTG
GAAGGCCGATGGATCTCCCGTGAAGGCCGGCGTGAAACCACCAAGCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACG
CCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACCGGTCCTACAGCTGCCAGGTGACACAC
GAGGGCAGCACCGTGGAAGAACCGTGCCCCCACCGAGTGAGCtagggggcccggtttaaacgggggaggcta

Secuencia señal (1-60), región variable (61-393), región constante (394-711)

SEQ ID NO: 75: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 2C1.1

MVLQTQVFISLLWISGAYGQSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQFPRTPKLLIYVYN
IRPSGVPDRFSGSRSGTSASLAITGLQTEADYYCQSYDSSLGCVFVGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPSSSE
ELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTH
EGSTVEKTVAPTECS

Secuencia señal (1-20), región variable (21-131), región constante (132-237)

Figura 41

SEQ ID NO: 76: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada del anticuerpo 5H3.1

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCTAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCG
ACTACTACATGAACTGGGTGCGCCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCTGGATCAACCCCAACAGC
GGCGGCACCAAATACGCCCAGAAATTCCAGGGCAGAGTGACCATGACCCGGGACACCAGCATCCGGACCGCCTA
CATGGAAGTGAAGCGGCTGAGAAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGAGTACGGCGGCAACAGCG
ATTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTCAGCTCAGCCAGCACCAAGGGCCCTTCCGTGTTC
CCTCTGGCCCTTGTAGCCGTTCACACAGCGAGTCCACCGCCGCCCTTGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCC
TGAGCCTGTGACCGTGAGCTGGAAGTCCGGAGCCCTTACCAGCGGCGTGACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGT
CCAGCGGCCTTTACTCCCTGAGCTCCGTGGTGACCGTGCTAGCTCCAAGTTCGGCACCCAAACCTACACCTGT
AACGTGGACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGCGTAAGTGTGTGGAGTGTCTCTCC
TTGTCCTGCCCCCTCTGTGGCCGGACCTTCCGTGTTCTTTTCCCTCCTAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCA
GCCGTACCCCTGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCTGAGGTGCAGTTCAACTGGTAC
GTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGTGAGGAGCAATTCAACAGCACCTTCCGTGTGGT
GTCCGTGCTTACCGTGGTGCACCAAGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAAGGTGAGCAACAAGGGAC
TTCCTGCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGACCAAGGGCCAACCTCGTGAGCCTCAAGTGTACACCCCTTCCCT
CCTAGCCGTGAGGAGATGACCAAGAACCAAGTGTCCCTTACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACAT
CGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGACAACCTGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCTATGCTTGACAGCGACG
GCTCCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGTTGGCAACAAGGCAACGTGTTGAGCTGTTCC
GTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAAAAGAGCCTTTCCTGAGCCCTGGAAAG

Secuencia señal (1-57), región variable (58-417), región constante (418-1395)

SEQ ID NO: 77: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 5H3.1

MKHLWFFLLLVAAAPRWLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDYDMNWVRQAPGQGLEWMGWINPNS
GGTKYAQKFQGRVTMTRDTSIRTAIMEYELSRIRSDDTAVYYCAREYGGNSDWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVF
PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTC
NVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPL
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-139), región constante (140-465)

Figura 42

SEQ ID NO: 78: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera del anticuerpo 5H3.1

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCCAGTCCGTGCTGAC
CCAGCCTCCTTCCGTGTCTGGCGCCCCTGGCCAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCAGCAACATCG
GAGCTGGATACGACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCCCGGCACC GCCCCCAAGCTGCTGATCTACGGCAACAGC
AACCGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTAGCGGCAGCAAGAGCGGCACCAGCGCCAGCCTGGCCATTACCGG
ACTGCAGGCCGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCCAGAGCTACGACAACCGGCTGAGCGACAGCGTGGTGATCG
GCGGAGGCACCAAGCTGGCCGTGCAGGGACAGCCCAAGGCCAACCCACCGTGACCCTGTTCCCCCAAGCAGC
GAGGAAGTGCAGGCCAACAAAGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCTGGCGCCGTGACAGTGGC
CTGGAAGGCCGATGGATCTCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAACACCAAGCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAAT
ACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACCGGTCCTACAGCTGCCAGGTGACA
CACGAGGGCAGCACCGTGGAAGACCGTGCCCCCACCGAGTGACGtagggggccgtttaaacgggggagggc
ta

Secuencia señal (1-60), región variable (61-396), región constante (397-714)

SEQ ID NO: 79: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 5H3.1

MVLQTQVFISLLWISGAYGQSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNS
NRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDNRLSDSVVIGGGTKLAVQGQPKANPTVTLFPSS
EELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVT
HEGSTVEKTVAPTECS

Secuencia señal (1-20), región variable (21-132), región constante (133-238)

Figura 43

SEQ ID NO: 80: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada del anticuerpo 10F8

ccagcctccggactctagagccaccATGAAGCACCTGTGGTTCTTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGG
TGCTGTCTCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGCGCCGAATCTGTGCGGCCTGGAAGCAGCGTGAAGATCAGCTGC
AAGGCCAGCGGCTACGCCTTCCGGTCCTACTGGATGAACTGGGTCAAGCAGAGGCCAGGCCAGGGCCTGGAATG
GATCGGCCACATCTATCCCGGCGACGGCGACACCAACTACAACGGCAAGTTCAAGGGCAAGGCCACCCTGACCG
CCGACAAGAGCAGCAGCAGCCTACATGCAGCTGTCCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACCTGTGT
GGCAGAGGCGGCACAACCGTGGTGGTGGATTATTGGGGCCAGGGCACCACACTGACCGTGTCCAGCGCCAAGAC
CACCCCCCATCTGTGTATCCTCTGGCCCCTGGATCTGCCGCCAGACCAACAGCATGGTCAACCTGGGCTGCC
TCGTGAAGGGCTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGACCTGGAACAGCGGCTCTCTGTCTAGCGGCGTGCACACC
TTTCAGCCGTGCTGCAGAGCGACCTGTACACCCTGAGCAGCTCCGTGACCGTGCCTAGCAGCACCTGGCCTAG
CGAGACAGTGACCTGCAACGTGGCCCACCCTGCCAGCTCTACCAAGGTGGACAAGAAAATCGTGCCCCGGGACT
GCGGCTGCAAGCCCTGTATCTGTACCGTGCCCGAGGTGTCTCCGTGTTTCATCTTCCACCCAAGCCCAAGGAC
GTGCTGACCATCACCTGACACCCAAAGTGACATGTGTGGTGGTGGACATCAGCAAGGACGACCCCGAGGTGCA
GTTCAAGTTGGTTCGTGGACGACGTGGAAGTGACACAGCCAGACCCAGCCAGAGAGGAACAGTTCAACAGCA
CCTTCAGAAGCGTGTCCGAGCTGCCCATCATGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGAATTCAAGTGAGAGTG
AACAGCGCCGCCTTCCCTGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGACCAAGGGCAGACCCAAGGCCCCCAGGT
GTACACAATCCCCCACCCAAAGAACAGATGGCCAAGGACAAGGTGTCCCTGACCTGCATGATCACCGATTCT
TCCCAGAGGACATCACCGTGAATGGCAGTGAACGGCCAGCCCCGCCGAGAATACAAGAACACCCAGCCTATC
ATGGACACCGACGGCAGCTACTTCGTGTACAGCAAGCTGAACGTGCAGAAGTCCAAGTGGGAGGCCGGCAACAC
CTTACCTGTAGCGTGTGCACGAGGGCCTGCACAATCACACACCGAGAAGTCCCTGTCCCACAGCCCCGGCA
AAtgagtttaaacgggggaggctaact

Secuencia señal (26-82), región variable (83-436), región constante (437-1408)

SEQ ID NO: 81: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 10F8

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFRSYWMNWKQRPQGQLEWIGHIYPGD
GDTNYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYLCGRGGTTVVVDYWGQGTLLTVSSAKTTPPSVYPL
APGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSSETVTCNVA
HPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFI FPPKPKDVLITITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDV
EVHTAQTPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKE
QMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVNQKSNWEAGNTFTCSVLHE
GLHNHHTKSLSHSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-137), región constante (138-461)

Figura 44

SEQ ID NO: 82: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera del anticuerpo 10F8

ccagcctccggactctagagccaccATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCAGCG
GCGCCTACGGCGACATCGTGATGAGCCAGAGCCCTAGCAGCCTGGCCGTGTCTGCCGGCGAGAAAGTGACCATG
AGCTGCAAGAGCAGCCAGTCCCTGCTGAACAGCCGGACCCGGAAGAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCC
CGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGAGAAAGCGGCGTGCCCGATAGATTACCGGCA
GCGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCTGACAATCAGCAGCGTGAGGCCGAGGACCTGGCTGTGTACTACTGCAAG
CAGAGCTACAACCTGCCCTGGACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAGAGAGCCGACGCCGCTCCAC
CGTGTCATCTTTCCACCTAGCAGCGAGCAGCTGACCAGCGGCGGAGCTAGCGTCGTGTGCTTCCTGAACAACT
TCTACCCCAAGGACATCAACGTGAAGTGAAGATCGACGGCAGCGAGCGGCAGAACGGCGTGCTGAATAGCTGG
ACCGACCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCATGTCCAGCACCTGACCCTGACCAAGGACGAGTACGAGCG
GCACAACAGCTACACATGCGAGGCCACCCACAAGACCAGCACCTCCCCCATCGTGAAGTCCTTCAACCGGAACG
AGTGCTgagtttaaacgggggaggctaact

Secuencia señal (26-85), región variable (86-430), región constante (431-745)

SEQ ID NO: 83: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 10F8

MVLQTQVFISLLWISGAYGDIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLLNSRTRKNYLAWYQQKPGQSPKLLI
YWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCKQSYNLPWTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFFPSS
EQLTSGGASVVCFLNMFYPKDINVKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKEDEYERHNSYTC
EATHTKSTSPIVKSFNRNEC

Secuencia señal (1-20), región variable (21-135), región constante (136-240)

Figura 45

SEQ ID NO: 84: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada del anticuerpo 14F74

ccagcctccggactctagagccaccATGAAGCACCTGTGGTTCTTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGG
TGCTGTCTCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGCGCCGAACCTCGTGCGGCCTGGAAGCAGCGTGAAGATCAGCTGC
AAGGCCAGCGGCTACGCCTTCAGCAGCTACTGGATGAACTGGGTCAAGCAGCGGCCAGGCCAGGGCCTGGAATG
GATCGGCCATATCTATCCCGGCGACGGCGACACCAACTACAACGGCAAGTTCAAGGGCAAGGCCACCCTGACCG
CCGACAAGAGCAGCAGCACAGCCTACATGCAGCTGAGCGGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTTCTGC
GCCAGAAGCGGCAGACTGAGATTGCCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGCCAA
GACCACCCCCCAGCGTGTACCCTCTGGCTCCTGGATCTGCCGCCAGACCAACAGCATGGTCAACCTGGGCT
GCCTCGTGAAGGGCTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGACCTGGAACAGCGGCTCTCTGTCTAGCGGCGTGCAC
ACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCGACCTGTACACCCTGAGCAGCTCCGTGACCGTGCCTAGCAGCACCTGGCC
TAGCGAGACAGTGACCTGCAACGTGGCCACCCTGCCAGCTCTACCAAGGTGGACAAGAAAATCGTGCCCCGGG
ACTGCGGCTGCAAGCCCTGTATCTGTACCGTGCCGAGGTGTCCAGCGTGTTTCATCTTCCACCCAAGCCCAAG
GACGTGCTGACCATCACCTGACACCCAAAGTGACCTGTGTGGTGGTGGACATCAGCAAGGACGACCCGAGGT
GCAGTTCAAGTTGGTTCGTGGACGACGTGGAAGTGACACAGCCCAGACCCAGCCAGAGAGGAACAGTTCAACA
GCACCTTCAGAAGCGTGTCCGAGCTGCCCATCATGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATTCAAGTGCAGA
GTGAACAGCGCCGCCTTCCCTGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGACCAAGGGCAGACCCAAGGCCCTCA
GGTGTACACAATCCCCCACCACCAAGAAGAGATGGCCAAGGACAAGGTGTCCCTGACCTGCATGATCACCGATT
TCTTCCAGAGGACATCACCGTGAATGGCAGTGAACGGCCAGCCCGCCGAGAACTACAAGAACACCCAGCCT
ATCATGGACACCGACGGCAGCTACTTCGTGTACAGCAAGCTGAACGTGCAGAAGTCCAAGTGGGAGGCCGGCAA
CACCTTACCTGTAGCGTGTGCACGAGGGCCTGCACAATCACACACCGAGAAGTCCCTGTCCCACAGCCCCG
GCAAAAtgagtttaaacgggggaggctaact

Secuencia señal (26-82), región variable (83-439), región constante (440-1411)

SEQ ID NO: 85: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 14F74

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPQGGLWIGHIYPGD
GDTNYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYFCARSGRLRFAMDYWGQTSVTVSSAKTTPPSVYP
LAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTPSSTWPSETVTCNV
AHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFFPKPKDVLITLTPKVTGVVVDISKDDPEVQFSWFVDD
VEVHTAQTPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPK
EQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVNQKSNWEAGNTFTCSVLH
EGLHNHHTKSLSHSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-138), región constante (139-462)

Figura 46

SEQ ID NO: 86: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera del anticuerpo 14F74

ccagcctccggactctagagccaccATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCAGCG
GCGCCTACGGCGACATCGTGATGAGCCAGAGCCCTAGCAGCCTGGCCGTGTCTGCCGGCGAGAAAAGTGACCATG
AGCTGCAAGAGCAGCCAGTCCCTGCTGAACAGCCGGACCCGGAAGAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCC
CGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGAGAAAGCGGCGTGCCCGATAGATTACCGGCA
GCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCGTGCAGGCCGAGGACCTGGCTGTGTACTACTGCAAG
CAGAGCTACAACCTGCGGACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCCAGAGAGCCGACGCCGCTCCCACCGT
GTCCATCTTTCCACCTAGCAGCGAGCAGCTGACCAGCGGCGGAGCTAGCGTCGTGTGCTTCCTGAACAACTTCT
ACCCCAAGGACATCAACGTGAAGTGGAAGATCGACGGCAGCGAGCGGCAGAACGGCGTGCTGAATAGCTGGACC
GACCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCATGTCCAGCACCTGACCCTGACCAAGGACGAGTACGAGCGGCA
CAACAGCTACACATGCGAGGCCACCCACAAGACCAGCACCTCCCCCATCGTGAAGTCCTTCAACCGGAACGAGT
GCTgagttttaaacgggggaggctaact

Secuencia señal (26-85), región variable (86-427), región constante (428-742)

SEQ ID NO: 87: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 14F74

MVLQTQVFISLLWISGAYGDIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLLNSRTRKKNYLAWYQQKPGQSPKLLI
YWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFLTISVQAEDLAVYYCKQSYNLRFTFGGGTKLEIQRADAAPTVSIFPPSSE
QLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTLTKEDEYERHNSYTCAT
HKTSTSPIVKSFNREK

Secuencia señal (1-20), región variable (21-134), región constante (135-239)

Figura 47

SEQ ID NO: 88: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada del anticuerpo 17F6

ccagcctccggactctagagccaccATGAAGCACCTGTGGTTCTTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGG
TGCTGTCTCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGCGCCGAACCTCGTGCGGCCTGGAAGCAGCGTGAAGATCAGCTGC
AAGGCCAGCGGCTACGCCTTCAGCAGCTACTGGATGAACTGGGTCAAGCAGCGGCCAGGCCAGGGCCTGGAATG
GATCGGCCATATCTATCCCGGCGACGCCGACACCAACTACAACGGCAAGTTCAAGGGCAAGGCCACCCTGACCG
CCGACAAGAGCAGCAGCACAGCCTACATGCACCTGTCCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTTCTGC
AGCCGGCAGCTGGGCTTCAGATACGCCATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACCGTGTCTAGCGCCAA
GACCACCCCCCTAGCGTGTACCCTCTGGCCCCCTGGATCTGCCGCCAGACCAACAGCATGGTCACCCTGGGCT
GCCTCGTGAAGGGCTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGACCTGGAACAGCGGCTCTCTGTCTAGCGGCGTGAC
ACCTTTCAGCCGTGCTGCAGAGCGACCTGTACACCCTGAGCAGCTCCGTGACAGTGCCCGAGCTCTACCTGGCC
CAGCGAGACAGTGACCTGCAACGTGGCCACCCTGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAGAAAATCGTGCCCCGGG
ACTGCGGCTGCAAGCCCTGTATCTGTACCGTGCCCGAGGTGTCCAGCGTGTTCACTTCCACCCAAAGCCCAAG
GACGTGCTGACCATCACCTGACACCCAAAGTGACCTGTGTGGTGGTGACATCAGCAAGGACGACCCCGAGGT
GCAGTTCAGTTGGTTCTGTGGACGACGTGGAAGTGACACAGCCCAGACCCAGCCAGAGAGGAACAGTTCAACA
GCACCTTCAGAAGCGTGTCCGAGCTGCCCATCATGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGAATTCAAGTGCAGA
GTGAACAGCGCCGCCTTCCCTGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGACCAAGGGCAGACCCAAGGCCCCCA
GGTGTACACAATCCCCCACCACAAAGAACAGATGGCCAAGGACAAGGTGTCCCTGACCTGCATGATCACCGATT
TCTTCCAGAGGACATCACCGTGAATGGCAGTGAACGGCCAGCCCGCCGAGAACTACAAGAACACCCAGCCT
ATCATGGACACCGACGGCAGCTACTTCGTGTACAGCAAGCTGAACGTGCAGAAGTCCAACGGGAGGCCGGCAA
CACCTTACCTGTAGCGTGTGCACGAGGGCCTGCACAATCACACACCGAGAAGTCCCTGTCCCACAGCCCCG
GCAAAtgagtttaaacggggaggctaact

Secuencia señal (26-82), región variable (83-439), región constante (440-1411)

SEQ ID NO: 89: Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 17F6

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWKQRPQGLEWIGHIYPGD
ADTNYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCRQLGFRYAMDYWGQTSVTVSSAKTTPPSVYP
LAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTPSSTWPSETVTCNV
AHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITITLTPKVTCTVVDISKDDPEVQFSWFVDD
VEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPK
EQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLNQKSNWEAGNTFTCSVLH
EGLHNHHTKSLSHSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-138), región constante (139-462)

Figura 48

SEQ ID NO: 90: Secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera del anticuerpo 17F6

ccagcctccggactctagagccaccATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCAGCG
GCGCCTACGGCGACATCGTGATGAGCCAGAGCCCTAGCAGCCTGGCCGTGTCTGCCGGCGAGAAAAGTGACCATG
AGCTGCAAGAGCAGCCAGTCCCTGCTGAACAGCCGGACCCGGAAGAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCC
CGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGAGAAAAGCGGCGTGCCCGATAGATTACCGGCA
GCGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCTGACAATCAGCAGCGTGCAGGCCGAGGACCTGGCTGTGTACTACTGCAAG
CAGAGCTACAACCTGCGGACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAGAGAGCCGACGCCGCTCCCACCGT
GTCCATCTTTCCACCTAGCAGCGAGCAGCTGACCAGCGGCGGAGCTAGCGTCGTGTGCTTCCTGAACAACTTCT
ACCCCAAGGACATCAACGTGAAGTGGAAGATCGACGGCAGCGAGCGGCAGAACGGCGTGCTGAATAGCTGGACC
GACCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCATGTCCAGCACCTGACCCTGACCAAGGACGAGTACGAGCGGCA
CAACAGCTACACATGCGAGGCCACCCACAAGACCAGCACCTCCCCATCGTGAAGTCCTTCAACCGGAACGAGT
GCTgagttttaaacgggggaggctaact

Secuencia señal (26-85), región variable (86-427), región constante (428-742)

SEQ ID NO: 91: Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 17F6

MVLQTQVFISLLWISGAYGDIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLLNSRTRKNYLAWYQQKPGQSPKLLI
YWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFLTISVQAEDLAVYYCKQSYNLRFTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFFPSSE
QLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEAT
HKTSTSPIVKSFNRENC

Secuencia señal (1-20), región variable (21-134), región constante (135-239)

Figura 49

SEQ ID NO: 111: Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_H0

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCA
GCTACTACATCAGCTGGATCAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCTATGTGGACATGGGCAAC
GGCCGGACCAACTACAACGAGAAGTTCAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
CATGGAAGTGAAGCAGCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGTGG
ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
GACCGTGAAGTGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCTTGCAGTCTCAGGAC
TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACC
CTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCCTAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGA
TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
GGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACACAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCCGTGTGGACTCCG
ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Secuencia señal (1-57), región variable (58-408), región constante (409-1398)

SEQ ID NO: 112: Secuencia de aminoácidos de hR198_H0

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYPVTSYYISWIRQAPGQGLEWIGYVDMGN
GRNTYNEKFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDNHWGVDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-136), región constante (137-466)

Figura 50

SEQ ID NO: 113: Secuencia de nucleótidos que codifica hR198_H5

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCG
CCTACTACATCAGCTGGATCAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCGACATGGGCAAC
GGCCGGACCAACTACAACGCCCGGTTTAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
CATGGAAGTGAAGCAGCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGTGG
ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCTTGCAGTCCTCAGGAC
TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCC
CTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGA
TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
GGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACACAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCCGTGTCTGGACTCCG
ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Secuencia señal (1-57), región variable (58-408), región constante (409-1398)

SEQ ID NO: 114: Secuencia de aminoácidos de hR198_H5

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPVTAYYISWIRQAPGQGLEWIGYIDMGN
GRITNYNARFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDNHWGVDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Secuencia señal (1-19), región variable (20-136), región constante (137-466)

Figura 51

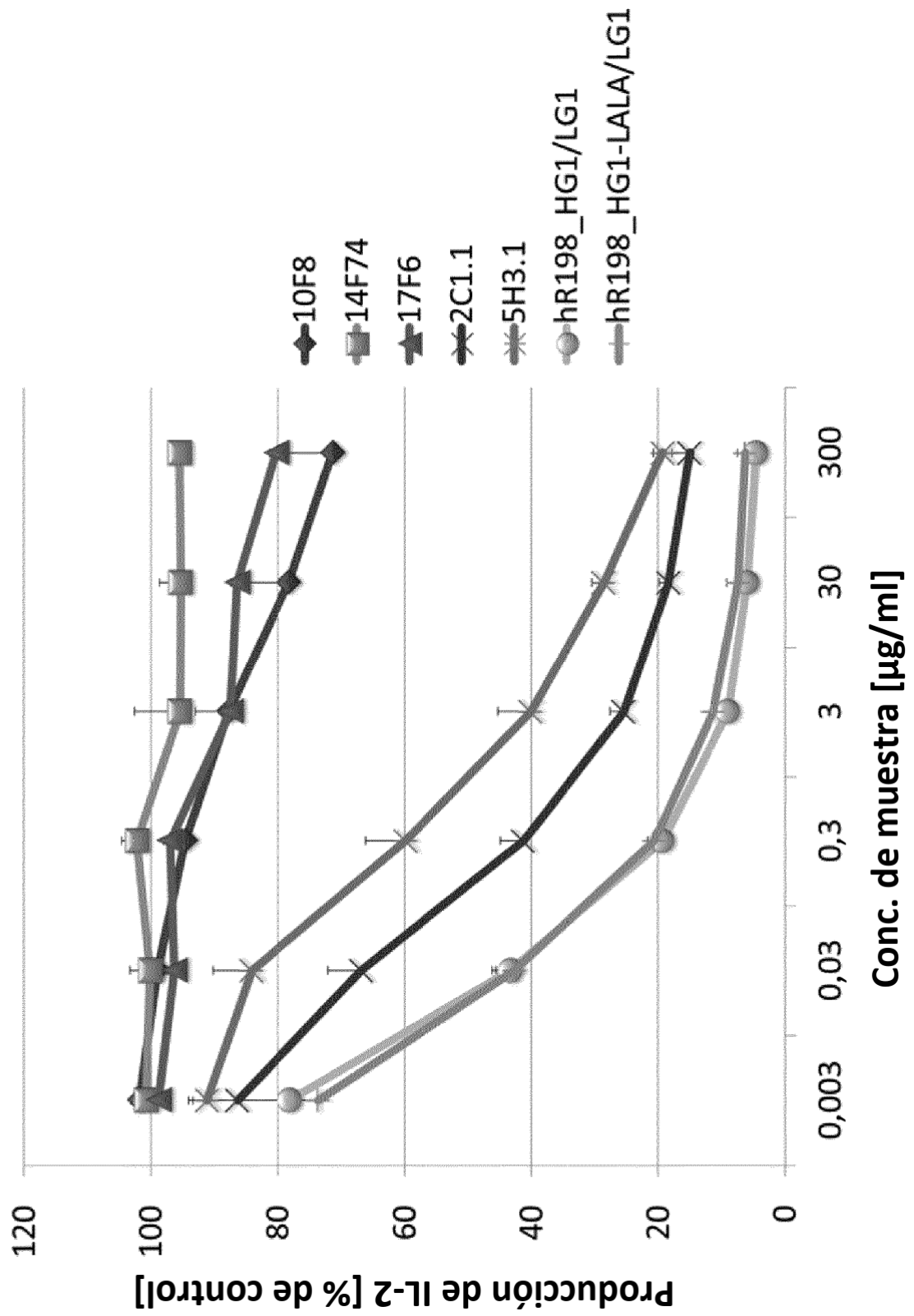


Figura 52

	Cl ₅₀ [ng/ml]	Cl ₈₀ [ng/ml]
10F8	>300000	>300000
14F74	>300000	>300000
17F6	>300000	>300000
2C1.1	137	17572
5H3.1	950	250617
hR198_HG1/LG1	19	282
hR198_HG1-LALA/LG1	17	347

Figura 53

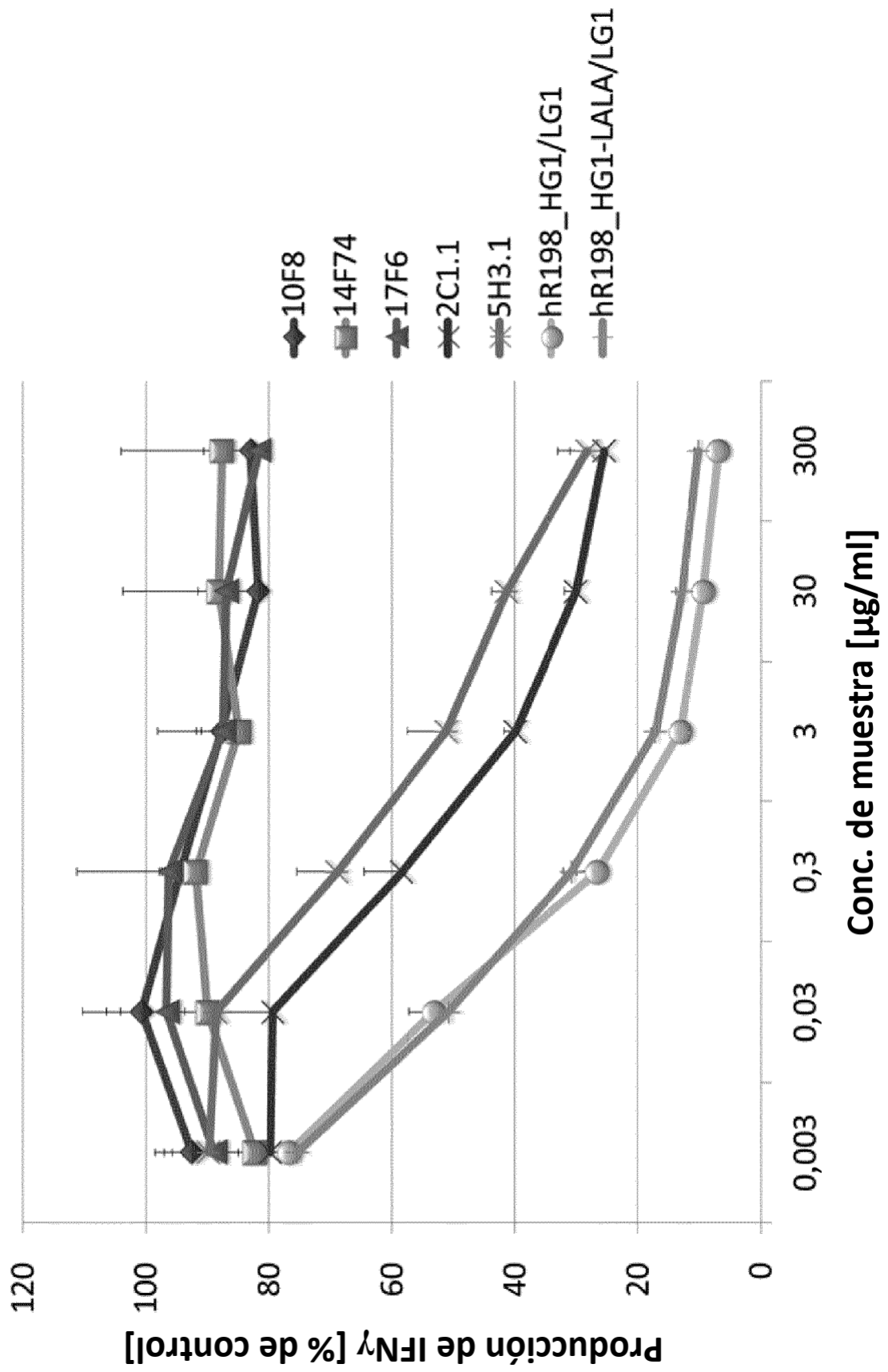


Figura 54

	Cl ₅₀ [ng/ml]	Cl ₈₀ [ng/ml]
10F8	>300000	>300000
14F74	>300000	>300000
17F6	>300000	>300000
2C1.1	852	>300000
5H3.1	3917	>300000
hR198_HG1/LG1	39	915
hR198_HG1-LALA/LG1	33	1840

Figura 55

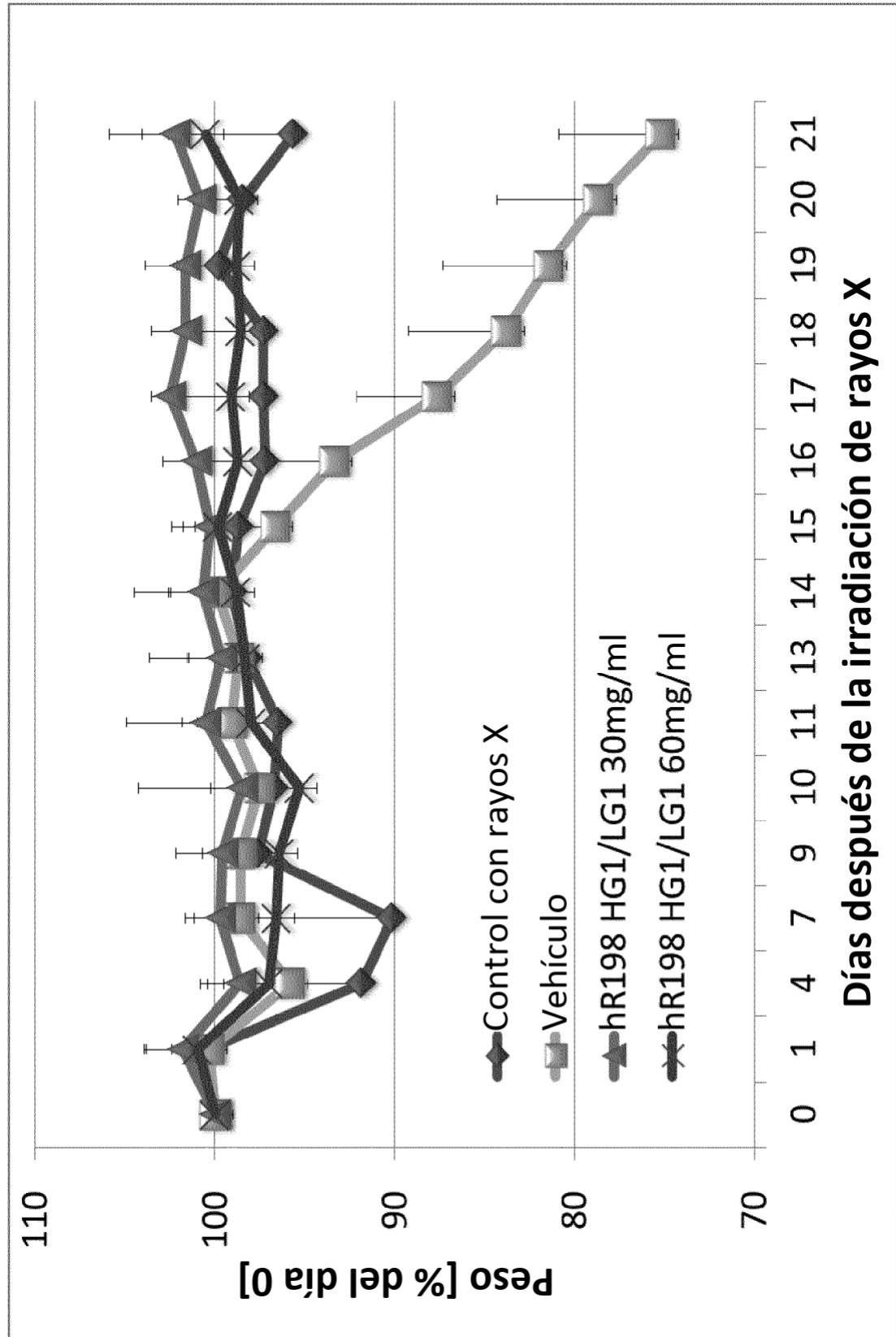


Figura 56

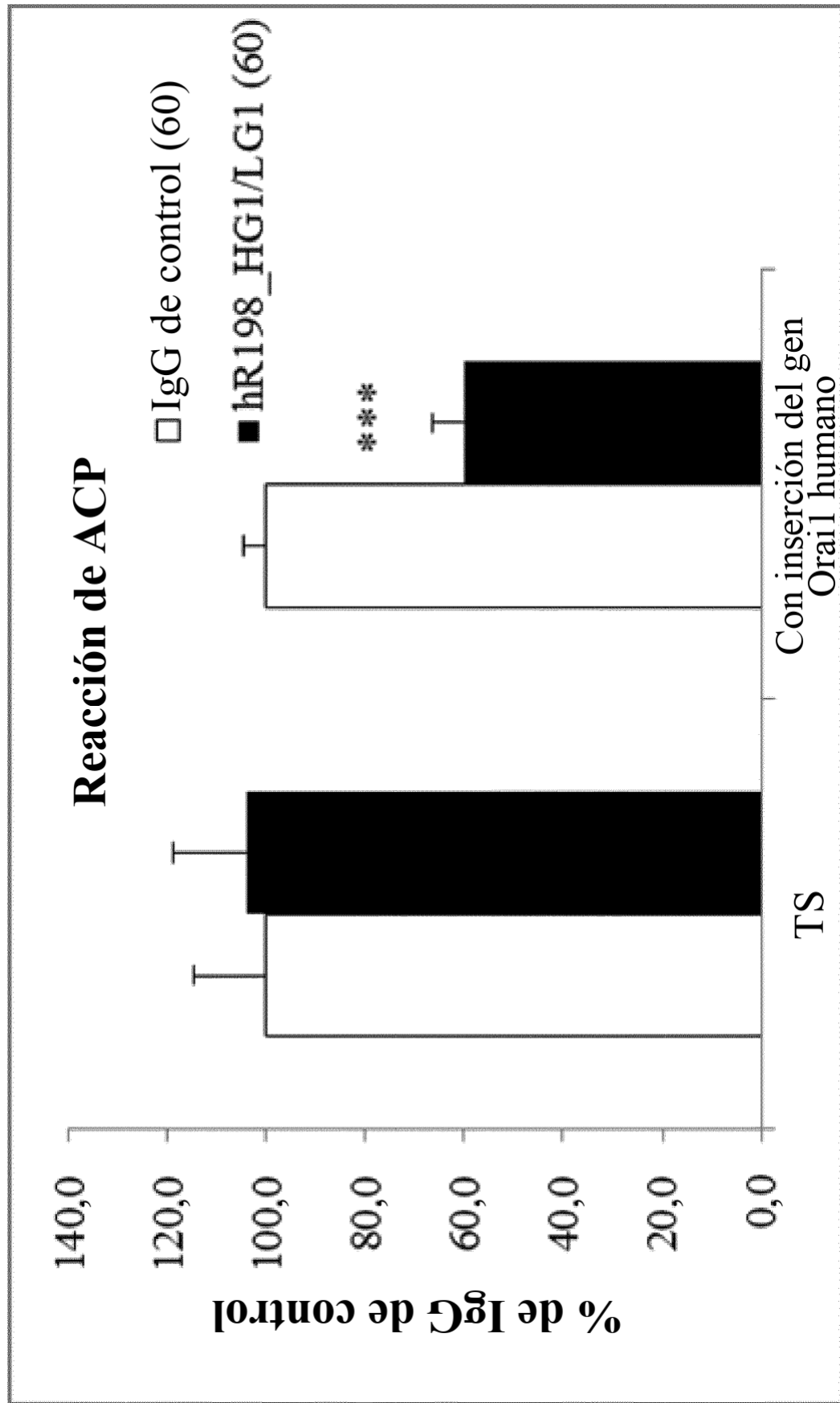
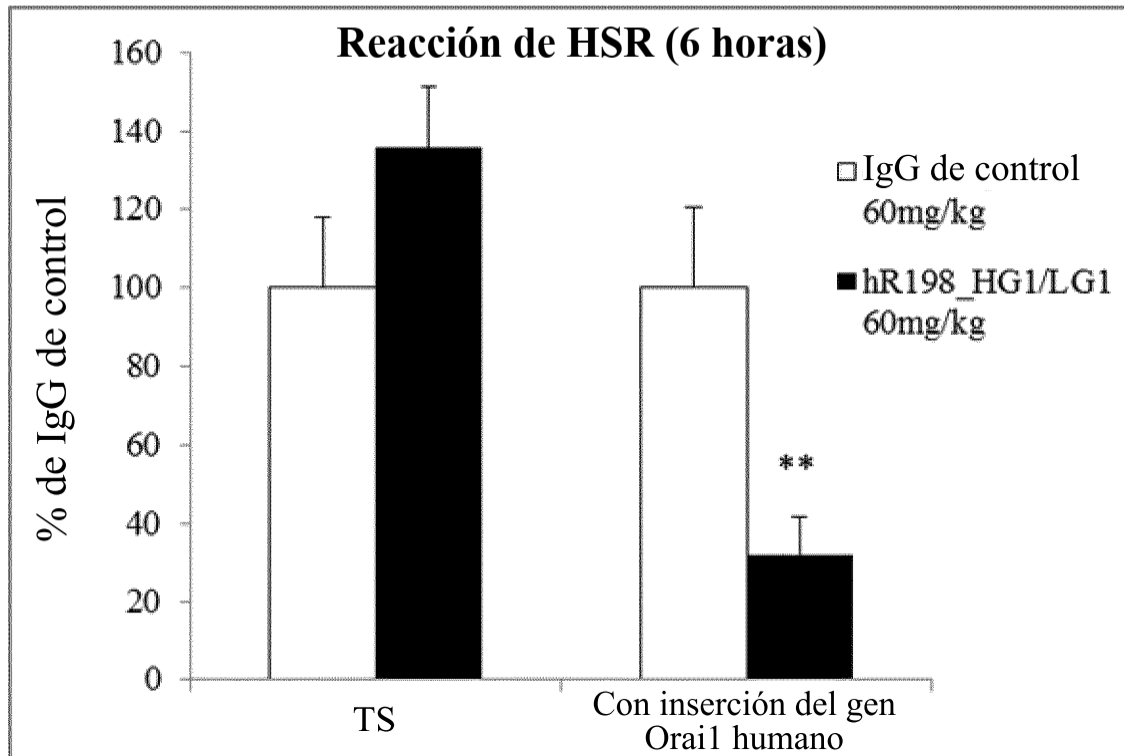
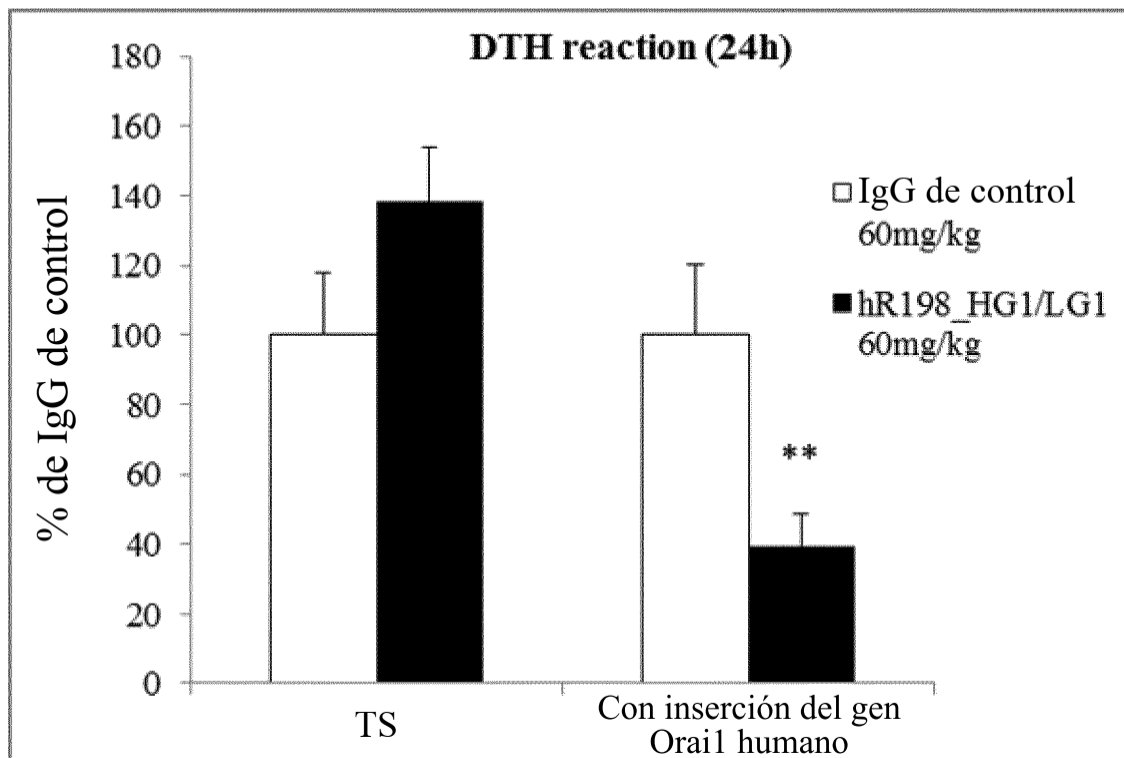


Figura 57

(A)



(B)



(C)

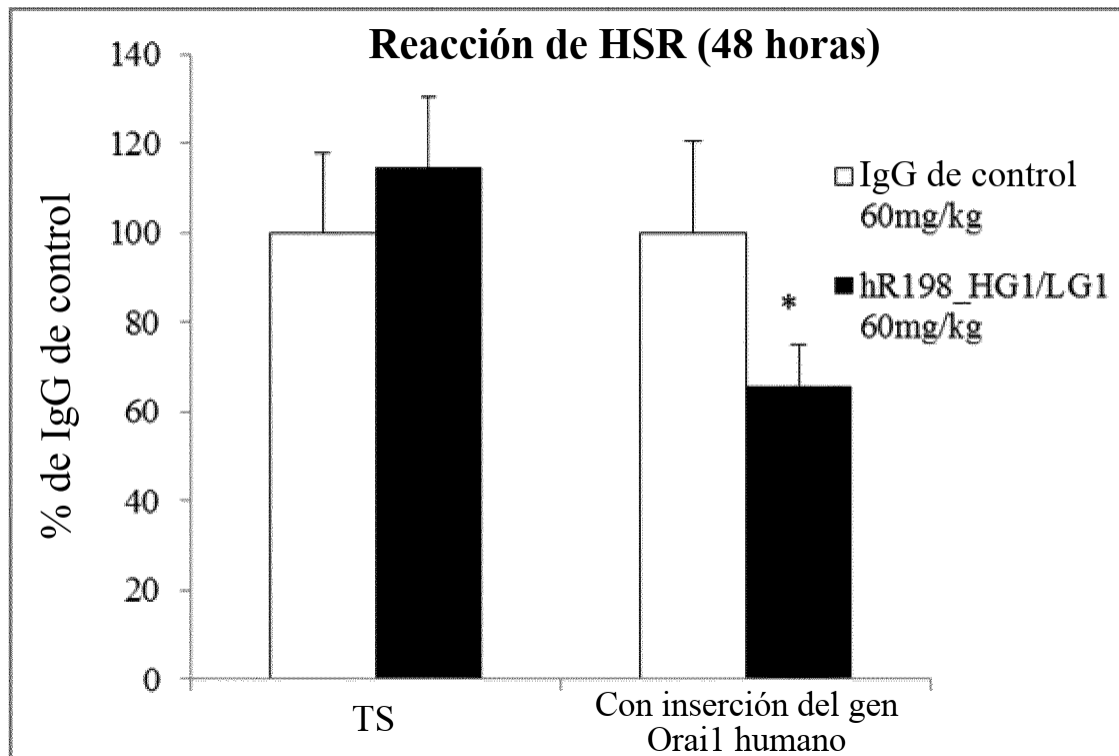


Figura 58

