

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 764 728**

51 Int. Cl.:

C07K 16/18 (2006.01)

G01N 33/577 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.08.2011** **E 18150424 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.11.2019** **EP 3339323**

54 Título: **Anticuerpos anti péptido Beta Amiloide N3pGlu y usos de los mismos**

30 Prioridad:

12.08.2010 US 373026 P

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

04.06.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

DEMATOS, RONALD BRADLEY;
LU, JIRONG y
TANG, YING

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 764 728 T3

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

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos anti péptido Beta Amiloide N3pGlu y usos de los mismos

La presente invención se refiere a anticuerpos que se unen selectivamente al péptido Beta Amiloide N3pGlu y a su uso en el tratamiento de enfermedades relacionadas con el péptido Beta Amiloide (A β , también denominado Abeta).

- 5 El péptido A β en forma circulante se compone de 38-43 aminoácidos (principalmente 38, 40 o 42 aminoácidos) que resultan de la escisión de una proteína precursora, la proteína precursora amiloide (APP). La conversión de A β de formas solubles a insolubles que tienen un alto contenido de lámina β y la deposición de estas formas insolubles como placas neuríticas y cerebrovasculares en el cerebro, se han asociado a una serie de afecciones y enfermedades, incluyendo la enfermedad de Alzheimer (EA), el síndrome de Down y la angiopatía amiloide cerebral (AAC).

- 10 Los depósitos encontrados en las placas están compuestos principalmente por una mezcla heterogénea de péptidos A β . A β N3pGlu, también denominado N3pE o A β _{p3-42}, es una forma truncada del péptido A β encontrado solo en placas. A β N3pGlu carece de los dos primeros restos de aminoácido del extremo N-terminal de A β y tiene un piroglutamato que procede del ácido glutámico en la tercera posición de aminoácido. Aunque el péptido A β N3pGlu es un componente minoritario del A β depositado en el cerebro, los estudios han demostrado que el péptido A β N3pGlu tiene propiedades de agregación agresivas y se acumula temprano en la cascada de deposición.

- 15 Aunque se han descrito previamente anticuerpos policlonales y monoclonales que se dirigen al péptido A β N3pGlu (documentos US 7.122.374 y WO2010/009987), todavía existe una necesidad de anticuerpos monoclonales anti A β N3pGlu de alta afinidad para acoplarse a la diana *in vivo* (es decir, unión a la placa) y, posteriormente, reducir los niveles de placa. Además, dado que los anticuerpos anti A β carboxilo terminales y amino terminales conducen a un aumento de microhemorragia relacionada con la angiopatía amiloide cerebral (AAC), existe la necesidad de anticuerpos anti A β N3pGlu que no den lugar a un aumento de la microhemorragia aunque el tratamiento crónico de como resultado una reducción significativa de la placa depositada.

La materia objeto de la invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

- 25 Los anticuerpos dentro del ámbito de la presente invención son antagonistas del péptido A β N3pGlu terapéuticamente útiles que poseen varias propiedades deseables. Los presentes anticuerpos se unen al péptido A β N3pGlu humano con alta afinidad y muestran un descenso de la placa *in vivo* dependiente de la dosis sin un aumento de microhemorragia relacionada con la angiopatía amiloide cerebral (AAC).

- 30 Según un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un anticuerpo anti A β N3pGlu que comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) y una región variable de cadena pesada (HCVR) en el que LCDR1 es KSX1X2SLLYSRX3KTYLN (SEQ ID NO: 51), LCDR2 es AVSKLX4S (SEQ ID NO: 52), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5) y HCDR1 es GYX5FTX6YYIN (SEQ ID NO: 53), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGX7TVY (SEQ ID NO: 54), en el que X1 es S o T; X2 es Q o R, X3 es G o S, X4 es D o G, X5 es D o T, X6 es R o D y X7 es I, T, E o V, para su uso en la prevención de la enfermedad de Alzheimer.

- 35 Según un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona un anticuerpo anti A β N3pGlu que comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) y una región variable de cadena pesada (HCVR), en el que LCDR1 es KSX1X2SLLYSRX3KTYLN (SEQ ID NO: 51), LCDR2 es AVSKLX4S (SEQ ID NO: 52), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5) y HCDR1 es GYX5FTX6YYIN (SEQ ID NO: 53), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8), y HCDR3 es EGX7TVY (SEQ ID NO: 54), en el que X1 es S o T; X2 es Q o R, X3 es G o S, X4 es D o G, X5 es D o T, X6 es R o D y X7 es I, T, E o V, para su uso en la prevención de una afección seleccionada de enfermedad de Alzheimer preclínica o clínica, enfermedad de Alzheimer prodrómica y AAC clínica o preclínica.

- 45 Preferentemente el anticuerpo anti A β N3pGlu humano o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según la presente invención comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) y una región variable de cadena pesada (HCVR), en el que dicha LCVR comprende los polipéptidos LCDR1, LCDR2, LCDR3 y la HCVR comprende los polipéptidos HCDR1, HCDR2, HCDR3 que se seleccionan del grupo que consiste en:

- 50 a) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEQ ID NO: 3), LCDR2 es AVSKLDS (SEQ ID NO: 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYDFTRYIN (SEQ ID NO: 6), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGITVY (SEQ ID NO: 9);
 b) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEQ ID NO: 3), LCDR2 es AVSKLDS (SEQ ID NO: 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFTYYIN (SEQ ID NO: 7), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGTTVY (SEQ ID NO: 10);
 55 c) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEQ ID NO: 3), LCDR2 es AVSKLDS (SEQ ID NO: 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFTDYYIN (SEQ ID NO: 40), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGETVY (SEQ ID NO: 41);
 d) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEQ ID NO: 3), LCDR2 es AVSKLGS (SEQ ID NO: 35), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFTYYIN (SEQ ID NO: 7), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG

(SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGTTVY (SEQ ID NO: 10); o

e) LCDR1 es KSTRSLLYSRSKTYLN (SEQ ID NO: 45), LCDR2 es AVSKLDS (SEQ ID NO: 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFTDYYIN (SEQ ID NO: 40), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGVTVY (SEQ ID NO: 46).

- 5 Un aspecto de la presente invención proporciona un anticuerpo anti A β N3pGlu humano diseñado mediante ingeniería genética, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que tiene una Kd a 25 °C de menos de 1×10^{-9} M para el péptido A β N3pGlu humano. En una realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo anti A β N3pGlu humano diseñado mediante ingeniería genética, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que tiene una Kd a 25 °C de menos de 9×10^{-10} M para el péptido A β N3pGlu humano. En otra realización preferida, la
- 10 presente invención proporciona un anticuerpo anti A β N3pGlu humano diseñado mediante ingeniería genética, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que tiene una Kd a 25 °C de menos de 7×10^{-10} M para el péptido A β N3pGlu humano. En otra realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo anti A β N3pGlu humano diseñado mediante ingeniería genética, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que tiene una Kd a 25 °C entre 9×10^{-10} M y 1×10^{-10} M para el péptido A β N3pGlu humano. En otra realización preferida, la presente
- 15 invención proporciona un anticuerpo anti A β N3pGlu, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que tiene una Kd a 25 °C entre 9×10^{-10} M y 1×10^{-10} M para el péptido A β N3pGlu humano.

Otro aspecto de la presente invención proporciona un anticuerpo anti A β N3pGlu, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que tiene una Kd a 25 °C de menos de 1×10^{-9} M o de menos de 9×10^{-10} M o de menos de 7×10^{-10} M o entre 9×10^{-10} M y 1×10^{-10} M para el péptido A β N3pGlu humano y reduce la placa *in vivo*. En una realización

20 preferida adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo anti A β N3pGlu humano diseñado mediante ingeniería genética, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que tiene una Kd a 25 °C de menos de 1×10^{-9} M o de menos de 9×10^{-10} M o de menos de 7×10^{-10} M o entre 9×10^{-10} M y 1×10^{-10} M para el péptido A β N3pGlu humano y reduce la placa *in vivo* sin aumentar la microhemorragia relacionada con AAC.

Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona un anticuerpo anti A β N3pGlu humano diseñado mediante ingeniería genética o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR y una HCVR, en el que LCDR1 es KSX₁X₂SLLYSRX₃KTYLN (SEQ ID NO: 51), LCDR2 es AVSKLX₄S (SEQ ID NO: 52), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5) y HCDR1 es GYX₅FTX₆YYIN (SEQ ID NO: 53), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGX₇TVY (SEQ ID NO: 54), en el que X₁ es S o T; X₂ es Q o R, X₃ es G o S, X₄ es D o G, X₅ es D o T, X₆ es R o D y X₇ es I, T, E o V.

- 30 Un aspecto de la presente invención proporciona un anticuerpo anti A β N3pGlu humano diseñado mediante ingeniería genética o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) y una región variable de cadena pesada (HCVR), en el que dicha LCVR comprende los polipéptidos LCDR1, LCDR2, LCDR3 y la HCVR comprende los polipéptidos HCDR1, HCDR2, HCDR3 que se seleccionan del grupo que consiste en:

- 35 a) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEQ ID NO: 3), LCDR2 es AVSKLDS (SEQ ID NO: 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYDFTYYIN (SEQ ID NO: 6), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGITVY (SEQ ID NO: 9);
- b) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEQ ID NO: 3), LCDR2 es AVSKLDS (SEQ ID NO: 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFTRYIN (SEQ ID NO: 7), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGTTVY (SEQ ID NO: 10);
- 40 c) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEQ ID NO: 3), LCDR2 es AVSKLDS (SEQ ID NO: 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFTDYYIN (SEQ ID NO: 40), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGETVY (SEQ ID NO: 41);
- d) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEQ ID NO: 3), LCDR2 es AVSKLGS (SEQ ID NO: 35), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFTRYIN (SEQ ID NO: 7), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGTTVY (SEQ ID NO: 10); y
- 45 e) LCDR1 es KSTRSLLYSRSKTYLN (SEQ ID NO: 45), LCDR2 es AVSKLDS (SEQ ID NO: 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFTDYYIN (SEQ ID NO: 40), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGVTVY (SEQ ID NO: 46).

- 50 En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo anti A β N3pGlu humano diseñado mediante ingeniería genética o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR y una HCVR, en el que LCDR1 es la SEQ ID NO: 3, LCDR2 es la SEQ ID NO: 4, LCDR3 es la SEQ ID NO: 5, HCDR1 es la SEQ ID NO: 6, HCDR2 es la SEQ ID NO: 8 y HCDR3 es la SEQ ID NO: 9. En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo anti A β N3pGlu humano diseñado mediante ingeniería genética o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR y una HCVR, en el que LCDR1 es la SEQ ID NO: 3, LCDR2 es la SEQ ID NO: 4, LCDR3 es la SEQ ID NO: 5, HCDR1 es la SEQ ID NO: 7, HCDR2 es la SEQ ID NO: 8 y HCDR3 es la SEQ ID NO: 10. En una realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo anti A β N3pGlu humano diseñado mediante ingeniería genética o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR y una HCVR, en el que LCDR1 es la SEQ ID NO: 3, LCDR2 es la SEQ ID NO: 4, LCDR3 es la SEQ ID NO: 5, HCDR1 es la SEQ ID NO: 40, HCDR2 es la SEQ ID NO: 8 y HCDR3 es la SEQ ID NO: 41. En una realización preferida, la presente
- 55 invención proporciona un anticuerpo anti A β N3pGlu humano diseñado mediante ingeniería genética o fragmento de
- 60 invención proporciona un anticuerpo anti A β N3pGlu humano diseñado mediante ingeniería genética o fragmento de

unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR y una HCVR, en el que LCDR1 es la SEQ ID NO: 3, LCDR2 es la SEQ ID NO: 35, LCDR3 es la SEQ ID NO: 5, HCDR1 es la SEQ ID NO: 7, HCDR2 es la SEQ ID NO: 8 y HCDR3 es la SEQ ID NO: 10. En una realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo anti A β N3pGlu humano diseñado mediante ingeniería genética o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR y una HCVR, en el que LCDR1 es la SEQ ID NO: 45, LCDR2 es la SEQ ID NO: 4, LCDR3 es la SEQ ID NO: 5, HCDR1 es la SEQ ID NO: 40, HCDR2 es la SEQ ID NO: 8 y HCDR3 es la SEQ ID NO: 46.

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

- a. LCVR de SEQ ID NO: 11 y HCVR de SEQ ID NO: 12;
- b. LCVR de SEQ ID NO: 11 y HCVR de SEQ ID NO: 13;
- c. LCVR de SEQ ID NO: 11 y HCVR de SEQ ID NO: 42;
- d. LCVR de SEQ ID NO: 36 y HCVR de SEQ ID NO: 37; y
- e. LCVR de SEQ ID NO: 47 y HCVR de SEQ ID NO: 48.

En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR de SEQ ID NO: 11 y una HCVR de SEQ ID NO: 12. En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR de SEQ ID NO: 11 y una HCVR de SEQ ID NO: 13. En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR de SEQ ID NO: 11 y una HCVR de SEQ ID NO: 42. En una realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR de SEQ ID NO: 36 y una HCVR de SEQ ID NO: 37. En una realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR de SEQ ID NO: 47 y una HCVR de SEQ ID NO: 48.

La presente invención también proporciona un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu que comprende una cadena ligera (LC) y una cadena pesada (HC), en el que los polipéptidos de LC y HC son seleccionados del grupo que consiste en:

- a) LC de SEQ ID NO: 14 y HC de SEQ ID NO: 15;
- b) LC de SEQ ID NO: 14 y HC de SEQ ID NO: 16;
- c) LC de SEQ ID NO: 14 y HC de SEQ ID NO: 44;
- d) LC de SEQ ID NO: 38 y HC de SEQ ID NO: 39; y
- e) LC de SEQ ID NO: 49 y HC de SEQ ID NO: 50.

En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LC de SEQ ID NO: 14 y una HC de SEQ ID NO: 15. En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LC de SEQ ID NO: 14 y una HC de SEQ ID NO: 16. En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LC de SEQ ID NO: 14 y una HC de SEQ ID NO: 44. En una realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LC de SEQ ID NO: 38 y una HC de SEQ ID NO: 39. En una realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LC de SEQ ID NO: 49 y una HC de SEQ ID NO: 50.

En una realización preferida, el anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en el que cada LC es el polipéptido de SEQ ID NO: 14 y cada HC es el polipéptido de SEQ ID NO: 15. En una realización preferida, el anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en el que cada LC es el polipéptido de SEQ ID NO: 14 y cada HC es el polipéptido de SEQ ID NO: 16. En una realización preferida, el anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en el que cada LC es el polipéptido de SEQ ID NO: 14 y cada HC es el polipéptido de SEQ ID NO: 44. En una realización preferida, el anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en el que cada LC es el polipéptido de SEQ ID NO: 38 y cada HC es el polipéptido de SEQ ID NO: 39. En una realización preferida, el anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en el que cada LC es el polipéptido de SEQ ID NO: 49 y cada HC es el polipéptido de SEQ ID NO: 50.

Según un aspecto adicional de la presente invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu de la presente invención o fragmento de unión a antígeno del mismo. En una realización preferida, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu de la presente invención o fragmento de unión a antígeno del mismo y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. En otra realización preferida, la composición farmacéutica comprende adicionalmente

uno o más ingredientes terapéuticos.

En un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona un procedimiento para tratar una afección asociada con la actividad del péptido A β , que comprende administrar a un paciente humano que lo necesita un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu o fragmento de unión a antígeno de la presente invención.

- 5 En un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona un procedimiento para tratar una afección seleccionada de un grupo que consiste en la enfermedad de Alzheimer preclínica o clínica, enfermedad de Alzheimer prodrómica, síndrome de Down y AAC preclínica o clínica, que comprende administrar a un ser humano que lo necesite un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu de la presente invención o fragmento de unión a antígeno del mismo. En un aspecto preferido, la presente divulgación proporciona un procedimiento para tratar la enfermedad de Alzheimer.
- 10 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en terapia. En una realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el tratamiento de una afección seleccionada de enfermedad de Alzheimer preclínica o clínica, enfermedad de Alzheimer prodrómica, síndrome de Down o AAC preclínica o clínica. En una realización más preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. En otra realización preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso en la prevención de una afección seleccionada de enfermedad de Alzheimer preclínica o clínica, enfermedad de Alzheimer prodrómica, AAC preclínica o clínica. En una realización más preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti A β N3pGlu o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso en la prevención de la enfermedad de Alzheimer.

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

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

- 30 Las CDR se entremezclan con regiones que están conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada región variable de cadena ligera (LCVR) y región variable de cadena pesada (HCVR) se compone de 3 CDR y 4 FR, dispuestas desde el extremo amino al extremo carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las 3 CDR de cadena ligera se denominan "LCDR1, LCDR2 y LCDR3" y las 3 CDR de cadena pesada se denominan "HCDR1, HCDR2 y HCDR3". Las CDR contienen la mayoría de los restos que forman interacciones específicas con el antígeno. La numeración y posicionamiento de los restos de aminoácido de CDR dentro de las regiones LCVR y HCVR están de acuerdo con la convención de numeración de Kabat bien conocida.

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

- 40 Como se usa en el presente documento, la expresión "anticuerpo monoclonal" (Mab) se refiere a un anticuerpo que procede o se aísla de una única copia o clon que incluye, por ejemplo, cualquier eucariota, procariota o clon de fago y no al procedimiento mediante el cual se produce. Los Mab de la presente invención existen, preferentemente, en una población sustancialmente homogénea u homogénea. Los Mab completos contienen 2 cadenas pesadas y 2 cadenas ligeras. La frase "fragmento de unión a antígeno" incluye, por ejemplo, fragmentos Fab, fragmentos Fab', fragmentos F(ab')₂ y fragmentos Fv de cadena simple. Los anticuerpos monoclonales de la presente invención y fragmentos de unión a antígeno de los mismos se pueden producir, por ejemplo, mediante tecnologías recombinantes, tecnologías de expresión en fagos, tecnologías sintéticas, por ejemplo, injerto de CDR o combinaciones de dichas tecnologías u otras tecnologías conocidas en la técnica. Por ejemplo, se pueden inmunizar ratones con anti A β N3pGlu humano o fragmentos del mismo, los anticuerpos resultantes se pueden recuperar y purificar y, se puede evaluar la determinación de si poseen propiedades de unión y funcionales similares o iguales a los compuestos de anticuerpos desvelados en el presente documento mediante los procedimientos desvelados esencialmente como se describe en los ejemplos a continuación. Los fragmentos de unión a antígeno también se pueden preparar mediante procedimientos convencionales. Los procedimientos para producir y purificar anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno son bien conocidos en la técnica y se pueden encontrar, por ejemplo, en Harlow y

Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, capítulos 5-8 y 15, ISBN 0-87969-314-2.

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

Son marcos totalmente humanos aquellos que son idénticos a una secuencia marco de línea germinal humana conocida. Las secuencias marco de línea germinal humana se pueden obtener de ImMunoGeneTics (IMGT) a través de su página web <http://imgt.cines.fr> o de The Immunoglobulin FactsBook por Marie-Paule Lefranc y Gerard Lefranc, Academic Press, 2001, ISBN 012441351. Por ejemplo, pueden seleccionarse marcos de cadena ligera de línea germinal del grupo que consiste en: AI1, A17, A18, A19, A20, A27, A30, LI, L1I, L12, L2, L5, L15, L6, L8, O12, O2 y O8 y se pueden seleccionar regiones marco de cadena pesada de línea germinal del grupo que consiste en: VH2-5, VH2-26, VH2-70, VH3-20, VH3-72, VH1-46, VH3-9, VH3-66, VH3-74, VH4-31, VH1-18, VH1-69, VI-13-7, VH3-11, VH3-15, VH3-21, VH3-23, VH3-30, VH3-48, VH4-39, VH4-59 y VH5-51.

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

La identificación de restos a considerar para una retromutación se puede llevar a cabo de la siguiente manera: Cuando un aminoácido cae en la siguiente categoría, el aminoácido marco de la secuencia de línea germinal humana que se usa (el "marco aceptor") se reemplaza por un aminoácido marco de un marco del compuesto de anticuerpo parental (el "marco donante"):

(a) el aminoácido en la región marco humana del marco aceptor es inusual para marcos humanos en esa posición, mientras que el aminoácido correspondiente en la inmunoglobulina donante es típica para marcos humanos en esa posición;

(b) la posición del aminoácido es inmediatamente adyacente a una de las CDR; o

(c) cualquier átomo de la cadena lateral de un aminoácido marco está dentro de aproximadamente 5-6 angstroms (centro a centro) de cualquier átomo de un aminoácido de CDR en un modelo de inmunoglobulina tridimensional.

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

Otro enfoque para generar anticuerpos humanos diseñados mediante ingeniería genética que exhiben propiedades funcionales similares a los compuestos de anticuerpos desvelados en el presente documento implica mutar aleatoriamente aminoácidos dentro de las CDR injertadas sin cambiar el marco y cribando las moléculas resultantes

con respecto a la afinidad de unión y otras propiedades funcionales que sean tan buenas o mejores que aquellas de los compuestos de anticuerpos parentales. También se pueden introducir mutaciones sencillas en cada posición de aminoácido dentro de cada CDR, seguido de la evaluación de los efectos de dichas mutaciones en la afinidad de unión y otras propiedades funcionales. Se pueden combinar mutaciones sencillas que producen propiedades mejoradas para evaluar sus efectos en combinación entre sí.

Además, es posible una combinación de ambos enfoques anteriores. Después del injerto de CDR, se pueden retromutar regiones marco específicas además de introducir cambios de aminoácidos en las CDR. Este procedimiento se describe en Wu y col. (1999) J. Mol. Biol. 294:151-162.

Aplicando las enseñanzas de la presente invención, una persona experta en la materia puede usar técnicas comunes, por ejemplo, mutagénesis dirigida, para sustituir aminoácidos dentro de las secuencias marco y CDR desveladas en el presente documento y, de este modo, generar secuencias de aminoácidos de la región variable adicionales derivadas de las presentes secuencias. Todos los aminoácidos alternativos de origen natural se pueden introducir en un sitio de sustitución específico. Los procedimientos desvelados en el presente documento se pueden utilizar luego para cribar estas secuencias de aminoácidos de la región variable adicionales para identificar secuencias que tienen las funciones *in vivo* indicadas. De este modo, se pueden identificar secuencias adicionales adecuadas para preparar anticuerpos humanos diseñados mediante ingeniería genética y porciones de unión a antígeno de los mismos según la presente invención. Preferentemente, la sustitución de aminoácidos dentro de los marcos se restringe a una, dos o tres posiciones dentro de una cualquiera o más de las 4 regiones marco de cadena ligera y/o cadena pesada desveladas en el presente documento. Preferentemente, la sustitución de aminoácidos dentro de las CDR se restringe a una, dos o tres posiciones dentro de una cualquiera o más de las 3 CDR de cadena ligera y/o cadena pesada. También son posibles combinaciones de los diversos cambios dentro de estas regiones marco y CDR descritas anteriormente.

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

Los anticuerpos de la presente invención se pueden utilizar como medicamentos en medicina humana, administrados mediante una diversidad de rutas. Lo más preferentemente, tales composiciones son para administración parenteral. Dichas composiciones farmacéuticas se pueden preparar mediante procedimientos bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19^a ed. (1995), A. Gennaro y col., Mack Publishing Co.) y comprenden un anticuerpo como el desvelado en el presente documento o un fragmento de unión a antígeno del mismo y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

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

Ejemplo 1: Producción de anticuerpos

Generación inicial de anticuerpos: Se inmunizan ratones transgénicos FVB con el péptido amiloide β 3-42 humano modificado con piroglutamato y truncado en el extremo N terminal (N3pGlu) pretratado a 37 °C durante la noche para formar un agregado. Se cosechan células de bazo de los ratones y se reduce el número de células B reactivas frente a A β 1-40 mediante MACS. Se clasifican las células restantes para unirse al péptido A β N3pGlu agregado. Se aísla ARN de las células B seleccionadas y se convierte en ADNc usando oligo dT. Se obtienen regiones variables de cadena ligera y cadena pesada de anticuerpo mediante PCR usando cebadores de secuencia señal de anticuerpo y se clonan en vector de fago mediante mutagénesis de Kunkel para fabricar la biblioteca de Fab. La biblioteca de Fab se criba con respecto a la unión al péptido A β N3pGlu agregado mediante ELISA de un solo punto (SPE) y se somete a contra-cribado frente a A β 1-40. Se caracterizan los clones positivos mediante secuenciación de ADN, expresión de fab y unión al péptido A β N3pGlu y falta de unión al péptido A β 1-42 o A β 1-40 soluble.

Se construyen y criban bibliotecas mutantes de aminoácidos sencillos mediante SPE para unirse al péptido A β N3pGlu agregado, pero no al A β 1-42. Se combinan mutaciones beneficiosas en bibliotecas combinatorias. Se seleccionan y se convierten las variantes combinatorias optimizadas para la afinidad en IgG1 de ratón para la medición de la afinidad mediante BIACORE® y la unión a la placa A β mediante inmunohistoquímica. A partir de un clon identificado, se fabrica la proteína mAAb en isotipos IgG1 (mE8) e IgG2a (mE8c) de ratón para estudios de eficacia *in vivo*. mE8 no se une a la secuencia A β N3pGlu de ratón (mPE3-16) o A β 1-42 humana.

Se utilizan marcos de línea germinal humana VH1-69/JH6 y Vk-A18/JK2 para la humanización inicial. Se injertan CDR del anticuerpo mE8 (con cuatro mutaciones de afinidad) en los marcos humanos, obteniéndose el anticuerpo hE8-C6. Se lleva a cabo una optimización de afinidad adicional en la cadena principal de hE8-C6 y se combinan mutaciones beneficiosas para obtener la variante humanizada de alta afinidad R5, R17, R24 y 2420.

Segunda ronda de optimización para mejorar la capacidad de desarrollo de fármacos: Dos variantes humanizadas, hE8-C6 y R17, se eligen como cadena principal para una segunda ronda de optimización para mejorar la vida media

del suero del anticuerpo mediante la disminución de la unión no específica a células y para aumentar la afinidad del anticuerpo al péptido A β N3pGlu soluble. Se sintetiza un péptido soluble biotinilado que consiste en el aminoácido 14 del extremo N terminal de A β N3pGlu (pE3-16B) y se evalúa si es equivalente al péptido A β N3pGlu para la unión al anticuerpo mE8. Se desarrolla un ensayo de elevación de filtro de alto rendimiento utilizando pE3-16B y se aplica a todos los cribados posteriores de la biblioteca. Se confirman todos los aciertos del cribado de elevación de filtro mediante la unión a A β N3pGlu agregado.

Se criban de nuevo bibliotecas de variantes de hE8-C6 usando el ensayo de elevación de filtro y se identifica un conjunto de mutaciones beneficiosas. Se utiliza un subconjunto de éstas para fabricar la biblioteca combinatoria. Se seleccionan cuatro variantes combi (Coll-E10, Coll-G2, Coll-G8 y Coll-E2) de este enfoque.

Se emplea modelado por ordenador para crear modelos estructurales de la región V de hE8-C6, R17, R24 y otras variantes. El análisis de modelo estructural identifica cargas positivas introducidas para la agrupación de optimización de afinidad en el sitio de unión, una causa potencial de unión no específica de anticuerpos a células. Basándose en el modelado, se seleccionan varias posiciones para introducir cambios para equilibrar el potencial electrostático de la superficie. Se sintetiza una biblioteca combinatoria mediante la combinación de algunas mutaciones beneficiosas del cribado de bibliotecas y los cambios definidos mediante modelado estructural. Se seleccionan tres variantes (R17m-B4, R17m-A12 y R17m-B12) de este esfuerzo para estudios adicionales.

El análisis de modelo estructural también descubre un choque estérico entre el resto de marco de cadena ligera Y36 y los restos en la CDR3 de cadena pesada. La mutación Y36L se introduce en la cadena ligera de hE8-C6 para producir la variante hE8L. Se encuentra que este cambio de marco solo tiene un impacto significativo tanto en el aumento de la afinidad del anticuerpo como en la reducción de la unión celular no específica.

El otro esfuerzo fue probar un marco humano diferente para la humanización. Se injertan CDR del anticuerpo mE8 en los marcos VH5-51/VKO2 y VH3-23/VKA2. Se determina que el Fab humanizado con VH5-51/VKO2 (hE8-5102) es equivalente, si no mejor, que hE8-C6 en la unión de A β N3pGlu. La introducción de mutaciones beneficiosas adicionales en hE8-5102 genera variantes combi CI-A1, CI-B6, CI-C7 y CI-B8.

Después de pasar todos los ensayos *in vitro*, incluyendo ELISA y BIACORE® para especificidad y afinidad por antígenos, unión celular no específica y tinción de IHC, se seleccionan cinco variantes de los mAb, B12L, CI-C7, hE8L, R17L y R17.

Se pueden fabricar y purificar anticuerpos esencialmente de la siguiente manera. Una célula hospedadora apropiada, tal como HEK 293 EBNA o CHO, se transfecta de forma estable o transitoria con un sistema de expresión para secretar anticuerpos usando una relación de vector HC:LC óptima predeterminada o un sistema de vector único que codifica tanto HC, tal como la SEQ ID NO: 56 y la SEQ ID NO: 43 y LC, tal como la SEQ ID NO: 55. El medio clarificado, en el que el anticuerpo se ha secretado, se purifica usando cualquiera de las numerosas técnicas utilizadas comúnmente. Por ejemplo, el medio puede aplicarse convenientemente a una columna de Sepharose FF con proteína A o G que se ha equilibrado con un tampón compatible, tal como tampón fosfato salino (pH 7,4). Se lava la columna para eliminar componentes de unión no específicos. Se eluye el anticuerpo unido, por ejemplo, mediante gradiente de pH (tal como tampón fosfato de sodio 0,1 M pH 6,8 a tampón citrato de sodio 0,1 M pH 2,5). Se detectan fracciones de anticuerpo, tal como por SDS-PAGE, y luego se combinan. La purificación adicional es opcional, dependiendo del uso previsto. El anticuerpo se puede concentrar y/o filtrar de forma estéril usando técnicas comunes. Se pueden eliminar eficazmente los multímeros y agregados solubles mediante técnicas comunes, que incluyen cromatografía de hidroxipatita, de intercambio iónico, de interacción hidrófoba o de exclusión por tamaño. La pureza del anticuerpo después de estas fases de cromatografía es mayor que 99 %. El producto se puede congelar inmediatamente a -70 °C o se puede liofilizar. Las secuencias de aminoácidos para estos anticuerpos de la presente invención se proporcionan a continuación.

Tabla 1- SEQ ID NO de anticuerpos

Anticuerpo	Cadena ligera	Cadena pesada	LCVR	HCVR
I (B12L)	14	15	11	12
II (R17L)	14	16	11	13
III (hE8L)	14	44	11	42
IV (R17)	38	39	36	37
V (CI-C7)	49	50	47	48
VI (mE8)	22	23	20	21
VII (mE8c)	22	24		

Ejemplo 2: Afinidad de unión a N3pGlu soluble

Se usa resonancia de plasmón superficial medida con el instrumento BIACORE® 2000 para medir la unión de A β

N3pGlu a anticuerpos anti N3pGlu. Salvo que se indique lo contrario, todos los reactivos y materiales son de BIACORE® AB (Uppsala, Suecia). Todas las mediciones se realizan a 25 °C. Se disuelven las muestras en tampón HBS-EP (cloruro de sodio 150 mM, EDTA 3 mM, tensioactivo P-20 al 0,005 % (p/v) y HEPES 10 mM, pH 7,4).

- 5 Se sintetiza una serie de péptidos Abeta con cambios posicionales (mutantes de glicina) para evaluar el impacto de un resto dado sobre la unión a anticuerpo y, por lo tanto, identificar las características y la secuencia requeridas para el reconocimiento del anticuerpo:

Nombre del péptido	Secuencia Abeta 3-16	
pE3-16	Pir-EFRHDSGYEVHHQK-biotina	SEQ ID NO: 25
E3-16	EFRHDSGYEVHHQK-biotina	SEQ ID NO: 26
pEG4	Pir-EGRHDSGYEVHHQK-biotina	SEQ ID NO: 27
mpE3-16	Pir-EFGHDSGFEVHHQK-biotina (roedor)	SEQ ID NO: 28
pEG6	Pir-EFRGDSGYEVHHQK-biotina	SEQ ID NO: 29
pEG7	Pir-EFRHGSGYEVHHQK-biotina	SEQ ID NO: 30
pEG8	Pir-EFRHDGGYEVHHQK-biotina	SEQ ID NO: 37
pEF10	Pir-EFRHDSGFEVHHQK-biotina	SEQ ID NO: 39

- 10 La importancia de una forma modificada y trunca (des 1,2) de ácido glutámico (3 pir-E o 3 pir-Glu) se evalúa mediante la comparación de la unión Aβ 1-42 frente a Aβ 3-16 frente a pE3-16 (SEQ ID NO: 1 frente a SEQ ID NO: 26 frente a SEQ ID NO: 25 respectivamente). Se disuelven los péptidos en PBS a 5 mg/ml antes de la dilución para experimentos de unión.

- 15 Se evalúa la unión usando ciclos analíticos múltiples de captura de anticuerpos, asociación/inyección de péptidos, flujo de tampón prolongado para disociación y regeneración de superficie. Para la fase de captura de anticuerpo, dependiendo del tipo de anticuerpo a capturar, se inmoviliza una micromatriz CM5 con proteína A o Fc de cabra anti ratón. Excepto para anticuerpos de ratón, cada ciclo consiste en: inyección de ~5-7 µl de anticuerpo anti N3pGlu 10 µg/ml a 5 µl/min (aplicación de captura 3.000 RU), inyección de 100 µl de péptido a 50 µl/min (1000 nM - 62,5 nM en diluciones seriadas a la mitad para cada ciclo), seguido de 10 minutos para la disociación. Para un anticuerpo de ratón, la velocidad de flujo es 50 µl/min y se inyectan 20 µl de anticuerpo de ratón a 50 µg/ml. En ambos casos, se regenera la superficie de la micromatriz usando 20 µl de hidrócloruro de glicina 10 mM, pH 1,5. Luego se obtiene la afinidad de unión (K_D) a partir de la tasa de disociación y asociación para cada ciclo usando un modelo de unión 1:1 en el software de análisis BIAevaluation. Los anticuerpos anti N3pGlu, B12L y R17L y el anticuerpo de ratón precursor (mE8C) reconocen Aβ N3pGlu específicamente, con una K_D menor de 1 nM. Los anticuerpos anti N3pGlu, B12L y R17L y el anticuerpo de ratón precursor (mE8C) también se unen a pE3-16 con afinidad similar, indicando que el epítipo se localiza dentro de esta región de los péptidos. El análisis de unión de anticuerpos a péptidos mutantes de glicina muestra que los restos críticos para la unión eran de 3 a 7: piroE en posición 3, F en posición 4, R en posición 5, H en posición 6, D en posición 7. No se detecta unión detectable a Aβ₁₋₄₀ para los anticuerpos de la presente invención.

Ejemplo 3: Afinidad de unión a N3pGlu agregado

- 30 También se realizan experimentos con BIACORE® para controlar la unión de anticuerpos anti N3pGlu a Aβ N3pGlu agregado. En este experimento, se inmoviliza el péptido Aβ N3pGlu a diferentes densidades en celdas de flujo 2 (densidad baja, LD), 3 (densidad media, MD) y 4 (densidad alta, HD) en una micromatriz CM-5 a través de la química de acoplamiento de amina. Se inmovilizan diferentes niveles de péptido Aβ N3pGlu para examinar el impacto de la densidad de superficie en la unión a anticuerpos anti N3pGlu. Tras la inmovilización, la mayor parte de N3pGlu se agrega en la superficie, como lo demuestra la falta de la unión a un Mab de control que solo reconoce el péptido monomérico. Esta forma agregada del péptido simula la propiedad del péptido abeta agregado en forma de amiloide o fibrilla, en el que la región N terminal de los péptidos está expuesta y se puede establecer como diana con anticuerpos.

- 40 La unión se evalúa usando múltiples ciclos analíticos a 25 °C. Cada ciclo se realiza a un caudal de 50 µl/min y consiste en las siguientes fases: inyección de 250 µl de solución de anticuerpo N3pGlu (comenzando a 500 nM y utilizando diluciones seriadas a la mitad para cada ciclo) seguido de 20 minutos para la disociación y regeneración usando ~30 µl de hidrócloruro de glicina 10 mM, pH 1,5. La tasa de asociación y disociación para cada ciclo se evalúan usando un modelo de ligando heterogéneo en el software BIAevaluation. Como el modelo de unión 1: 1 no se ajusta a los datos, el ajuste heterogéneo produce dos afinidades de unión (una afinidad baja y una alta). Los anticuerpos R17L y B12L y el anticuerpo mE8c murino precursor se unen al Aβ N3pGlu agregado con alta afinidad $K_{D,1} < 100$ pM y una menor afinidad $K_{D,2} < 10$ nM. La señal de unión máxima (R_{max}) se calculó como la suma de

R_{max} de la unión de alta y baja afinidad. Se muestra que R_{max} aumenta a medida que aumenta la densidad del péptido en la superficie, como se esperaba ya que hay más sitios de unión disponibles en una superficie de mayor densidad. Estos estudios de unión demuestran que los anticuerpos de la presente invención se unen al A β N3pGlu agregado.

5 Ejemplo 4: Estudios de acoplamiento con la diana Ex Vivo

Se realizan análisis inmunohistoquímicos con anticuerpos A β añadidos exógenamente con el fin de determinar el acoplamiento con la diana ex vivo en secciones cerebrales de un cerebro PDAPP fijado (de 24 meses de edad). Se ha demostrado que el ratón transgénico PDAPP desarrolla gran parte de la patología asociada con la enfermedad de Alzheimer. Para anticuerpos murinos, se usó una etiqueta de biotina como marcador ya que este experimento se realizó en tejido murino y, por lo tanto, no es apropiada una comparación directa entre los anticuerpos anti N3pGlu no murinos no biotinilados. El anticuerpo 3D6 N terminal (1-5) biotinilado marca fuertemente cantidades significativas de A β depositado en el hipocampo de PDAPP, mientras que el mE8 biotinilado marca solo un subconjunto de depósitos. A diferencia del cerebro humano con EA, la inmensa mayoría de A β depositado en el cerebro de PDAPP es de longitud completa. Se observa un marcado de placa similar para los anticuerpos anti N3pGlu no biotinilados, tales como B12L y R17L (en comparación con el mE8). No se observa un marcado de placa específico para IgG de control humanas ni de ratón. Debido a que la composición y la estructura probable del A β depositado es radicalmente diferente en el cerebro EA, se investigan los anticuerpos anti N3pGlu no biotinilados (3 ug/ml) para determinar si se unen a A β depositados en secciones cerebrales de un cerebro EA recién congelado. El anticuerpo de control positivo (3D6 biotinilado) marca intensamente muchas placas A β en el cerebro EA, mientras que los anticuerpos de control negativos (IgG humano y murino) carecen de cualquier unión apreciable. Varios de los anticuerpos anti N3pGlu no biotinilados tales como B12L y R17L se unen de forma similar a los A β depositados. Estos estudios histológicos demuestran que los anticuerpos anti N3pGlu de la presente invención pueden acoplarse a la diana de A β depositada ex vivo.

Ejemplo 5: Estudios de acoplamiento con la diana in vivo

Se mide la capacidad de los anticuerpos anti N3pGlu para acoplarse con la diana depositada in vivo. Se realiza un estudio subcrónico de 4 semanas con anticuerpos murinos biotinilados 3D6 y mE8c a 40 mg/kg administrados por vía intraperitoneal (IP) semanalmente. Se recogen los cerebros al término del experimento y el nivel de acoplamiento con la diana se determina mediante examen histológico del cerebro. Los animales inyectados con el 3D6 biotinilado tienen un marcado de placa solo a lo largo de la fisura del hipocampo, mientras que los ratones inyectados con mE8c biotinilado expresan un marcado de placas fuerte en el hipocampo y las regiones corticales. Se observan patrones de acoplamiento con la diana muy similares en un ensayo de 3 días más agudo (tinción de fisura de hipocampo 3D6 y marcaje de mE8 en hipocampo y regiones corticales). Estos resultados sugieren fuertemente que el anticuerpo 3D6, que se une tanto a A β soluble como insoluble, se satura con A β soluble y, por lo tanto, no puede acoplarse con la diana depositada deseada. En marcado contraste, el anticuerpo murino anti N3pGlu mE8c se acopla consistentemente con la diana prevista en ambas regiones críticas del cerebro. Se evalúan dosis altas y bajas de los anticuerpos anti N3pGlu R17L y B12L en un estudio in vivo de 3 días similar. Se inyectan los anticuerpos IP a 10 mg/kg (dosis baja) o 40 mg/kg (dosis alta). Al final del estudio, se recogen el plasma y los cerebros y se determina la PK del plasma. Se seccionan los cerebros y se realiza la inmunohistoquímica en secciones hermanas con un anticuerpo antihumano (para detectar el anticuerpo anti N3pGlu unido) y 3D6 (para detectar la cantidad total de diana depositada en la sección). A fin de una mejor cuantificación del nivel de acoplamiento con la diana in vivo, el porcentaje de área unida por el anticuerpo anti N3pGlu se normaliza frente al % de área total de posible diana (A β depositado total visualizado mediante inmunohistoquímica 3D6 exógena). Adicionalmente, el porcentaje global de acoplamiento con la diana se normaliza frente a los valores farmacocinéticos del plasma (PK) para cada ratón individual, ya que se detectan exposiciones significativas al término del estudio. Se encuentra que los anticuerpos anti N3pGlu tanto R17L como B12L se acoplan con la placa depositada con una distribución similar a la observada con el anticuerpo anti N3pGlu murino (mE8). Estos resultados demuestran que los anticuerpos anti N3pGlu R17L y B12L, cuando se administran periféricamente, pueden cruzar la barrera sangre-cerebro y acoplarse con la diana prevista del A β depositado, mientras que un anticuerpo que se une tanto a A β soluble como insoluble se satura con el soluble y no puede acoplarse con la diana depositada prevista.

50 Ejemplo 6: Estudios de reducción de placas terapéuticas

Se realiza un estudio de reducción de placas terapéuticas en ratones PDAPP de 23 meses de edad con los anticuerpos siguientes: anticuerpo de control negativo (IgG2a), 3D6, mE8 (IgG1) y mE8c (IgG2a). Se inyectan subcutáneamente los ratones PDAPP envejecidos con 12,5 mg/kg de cada anticuerpo semanalmente durante tres meses. Se realiza una necropsia a un grupo de ratones al principio del estudio (tiempo cero) a fin de determinar la carga de placa inicial a los 23 meses de edad. Al final del estudio, se obtiene plasma y se procesan los cerebros para obtener resultados bioquímicos e histológicos (un hemisferio cada uno). Se homogeneizan el hipocampo y las regiones corticales en guanidina 5 M y se mide el contenido A β mediante geles de urea ácida seguido por transferencia de Western. Un análisis de los lisados de guanidina del hipocampo de las cohortes de tiempo cero de 23 meses de edad y anticuerpo de control negativo (de 26 meses de edad) muestran un aumento no significativo en A β ₁₋₄₂ depositado; confirmando así que los cerebros de los ratones PDAPP están en la meseta de placa. De forma similar a los estudios previos en ratones PDAPP envejecidos, el tratamiento con el anticuerpo comparador 3D6 no

tiene efecto sobre la reducción de placa. El tratamiento con anticuerpo N3pGlu, mE8 o mE8c, da como resultado una reducción de placa significativa comparado con el anticuerpo de control negativo IgG2a ($p < 0,01$ y $p < 0,001$ respectivamente) (Tabla 2). El mE8 y mE8c reduce el $A\beta_{1-42}$ del hipocampo en ~38 % y ~53 %, respectivamente. El anticuerpo N3pGlu mE8c con función efectora máxima tiende a ser más eficaz que el anticuerpo con función efectora mínima mE8 (en comparación con el control), sin embargo, esta diferencia no alcanza significación estadística. También, el anticuerpo mE8c tiene una disminución significativa de ~30 % de $A\beta_{1-42}$ en el hipocampo comparado con los ratones de tiempo cero (prueba t; $p < 0,0066$), por lo tanto indica la eliminación de placa depositada previamente. Los análisis de los lisados de guanidina cortical producen resultados muy similares con la excepción de que solo el mE8c con función efectora máxima disminuye significativamente la deposición de $A\beta_{1-42}$. Estos resultados demuestran que el tratamiento crónico con anticuerpos N3pGlu de este ejemplo disminuye significativamente la deposición de placa en ratones PDAPP envejecidos de una forma dependiente de la función efectora. Adicionalmente, estos resultados apoyan la hipótesis de que el acoplamiento con la diana deficiente para anticuerpos $A\beta$ que se unen tanto a $A\beta$ solubles como insolubles (en oposición a la senescencia) fue el factor causante de su falta de eficacia cuando se usa en paradigmas terapéuticos.

Tabla 2- Reducción de placas de hipocampo y corteza (ng de $A\beta_{1-42}$ /mg de peso húmedo)

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

Ejemplo 7: Análisis de microhemorragia en ratones PDAPP envejecidos

Se realiza un estudio histológico para investigar si el mecanismo de acción de los anticuerpos N3pGlu que conduce a la reducción de la placa disminuida en ratones PDAPP envejecidos daría como resultado una exacerbación de la microhemorragia relacionada con AAC. Estudios previos han demostrado que el tratamiento de ratones transgénicos APP envejecidos con varios anticuerpos anti $A\beta$ amino terminal y carboxilo terminal conducirá a un aumento en la microhemorragia relacionada con AAC (Pfeifer y col. 2002; Wilcock y col. 2004; Racke y col. 2005). Aunque el mecanismo subyacente a este posible evento adverso no está claro, se han propuesto dos hipótesis que no se excluyen mutuamente: la redistribución de $A\beta$ en los vasos sanguíneos cerebrales (Wilcock y col. 2004) o la unión directa de anticuerpos a AAC existente (Racke y col. 2005). Análisis bioquímicos e histológicos demuestran que $A\beta_{p3-x}$ es un constituyente de AAC en pacientes EA y ratones PDAPP envejecidos. Se realiza un análisis histológico detallado para microhemorragia en ratones PDAPP envejecidos (23 a 26 meses de edad) que se han tratado terapéuticamente con anticuerpos de control y N3pGlu durante tres meses con inyecciones vía subcutánea semanalmente de 12,5 mg/kg. El control positivo para los análisis de microhemorragia es animales tratados crónicamente con 3D6 que han demostrado previamente que este anticuerpo anti $A\beta$ amino terminal exagera significativamente la microhemorragia (Racke y col. 2005). Al final del estudio, medio cerebro de cada animal se fija a gotas en formaldehído al 4 % y se inserta en parafina. Las secciones coronales que abarcan 2 mm de tejido se seccionan en 50 cortes (cuatro secciones de 10 μ m por corte). Once cortes de intervalos homogéneos a través de los 2 mm de tejido se tiñen con Perls Blue a fin de visualizar hemosiderina (acumulación de hierro celular debido a microhemorragia). Se recuentan manualmente dos secciones por corte con un diseño ciego. El tratamiento crónico de ratones PDSAPP envejecidos con 3D6 (control positivo) aumenta notablemente la microhemorragia ($p < 0,001$). De forma importante, esto demuestra que el tratamiento con mE8 (IgG1) o mE8c (IgG2a) no exagera la microhemorragia, aunque estos anticuerpos N3pGlu reducen significativamente el $A\beta$ depositado en estos animales. Estos resultados demuestran que los anticuerpos N3pGlu de este ejemplo no exageran la microhemorragia relacionada con AAC en ratones PDAPP envejecidos.

Listado de secuencias

<SEQ ID NO: 1; PRT1; Artificial> DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA ($A\beta$ 1-42)

<SEQ ID NO: 2; PRT1; Artificial> [pE]FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA (N3pE $A\beta$)

<SEQ ID NO: 3; PRT1; Artificial> KSSQSLLYSRGKTYLN (LCDR1-B12L/R17L/hE8L/R17)

<SEQ ID NO: 4; PRT1; Artificial> AVSKLDS (LCDR2 - B12L/R17L/hE8L/CI-C7)

<SEQ ID NO: 5; PRT1; Artificial> VQGTHYPFT (LCDR3 - B12L/R17L/hE8L/R17/CI-C7)

<SEQ ID NO: 6; PRT1; Artificial> GYDFTRYIN (HCDR1 - B12L)

<SEQ ID NO: 7; PRT1; Artificial> GYTFTRYIN (HCDR1 - R17L/R17)

<SEQ ID NO: 8; PRT1; Artificial> WINPGSGNTKYNEKFKG (HCDR2 - B12L/R17L/R17/CI-C7)

<SEQ ID NO: 9; PRT1; Artificial> EGITVY (HCDR3 - B12L)

<SEQ ID NO: 10; PRT1; Artificial> EGTTVY (HCDR3 - R17L/R17)

<SEQ ID NO: 11; PRT1; Artificial> (LCVR - B12L/R17L/hE8L)

DIVMTQTPLSLSVTPGPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLLIYAVSKLDS
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIK

<SEQ ID NO: 12; PRT1; Artificial> (HCVR - B12L)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGN
TKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREGITVYWGQGTITVTVSS

<SEQ ID NO: 13; PRT1; Artificial> (HCVR - R17L)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGNT
KYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREGTTVYWGQGTITVTVSS

<SEQ ID NO: 14; PRT1; Artificial> (LC - B12L/R17L)

DIVMTQTPLSLSVTPGPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLLIYAVSKLDS
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFI
FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTLS
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

<SEQ ID NO: 15; PRT1; Artificial> (HC - B12L)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGN
TKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREGITVYWGQGTITVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

<SEQ ID NO: 16; PRT1; Artificial> (HC - R17L)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTRYYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGNT
KYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARETTVYWGQGT~~TV~~TVSSAS

TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
 YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV
 FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
 YRVVSVLT~~VL~~HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL~~T~~
 KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

<SEQ ID NO: 17; ADN; Artificial> (LCVR ADN-B12L/R17L)

GATATTGTGATGACTCAGACTCCACTCTCCCTGTCCGTCACCCCTGGACAGCCGGCCT
 CCATCTCCTGCAAGTCAAGTCAGAGCCTCTTATATAGTCGCGGAAAAACCTATTTGAA
TTGGCTCCTGCAGAAGCCAGGCCAATCTCCACAGCTCCTAATTTATGCGGTGTCTAAA
CTGGACTCTGGGGTCCCAGACAGATTCAGCGGCAGTGGGTCAGGCACAGATTTACA
 CTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCCGAAGATGTTGGGGTTTATTACTGCGTGCAAGGT
ACACATTACCCATTACGTTTGGCCAAGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

<SEQ ID NO: 18; ADN; Artificial> (HCVR ADN-B12L)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCAGTGAAG
 GTTTCCTGCAAGGCATCTGGTTACGACTTCACTAGATACTATATAAACTGGGTGCGAC
 AGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGGATTAATCCTGGAAGCGGTAATA
CTAAGTACAATGAGAAATTCAAGGGCAGAGTCACCATTACCGCGGACGAATCCACGA
 GCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACT
 GTGCGAGAGAAGGCATCACGGTCTACTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCT
 CA

<SEQ ID NO: 19; ADN; Artificial> (HCVR ADN-R17L)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCAGTGAAG
 GTTTCCTGCAAGGCATCTGGTTACACCTTCACTAGATATTATATAAACTGGGTGCGAC
 AGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGGATTAATCCTGGAAGCGGTAATA
CTAAGTACAATGAGAAATTCAAGGGCAGAGTCACCATTACCGCGGACGAATCCACGA
 GCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACT
 GTGCGAGAGAAGGCACAACGGTCTACTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCT
 CA

<SEQ ID NO: 20; PRT1; Artificial> (LCVR - mE8)

NIVLTQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQRPGQSPKRLIYAVSKLDSG
 VPDRFIGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCVQGTHYPFTFGSGTKLEIK

<SEQ ID NO: 21; PRT1; Artificial> (HCVR - mE8)

EVQLLES~~GP~~ELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKQRPGQGLEWIGWINPGSGNTK
YNEKFKGKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTREGETVYWGQGTTLTVSS

<SEQ ID NO: 22; PRT1; Artificial> (LC - mE8 y mE8c)

NIVLTQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQRPGQSPKRLIYAVSKLDSG
VPDRFIGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCVQGTHYPFTFGSGTKLEIKRADAAPTVSIFP
PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSST
LTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRECE

<SEQ ID NO: 23; PRT1; Artificial> (HC - mE8)

EVQLLES~~GP~~ELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKQRPGQGLEWIGWINPGSGNTK
YNEKFKGKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTREGETVYWGQGTTLTVSSAKT
TPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT
LSSSVTVPSSTWPSSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPK
DVLITITLTPKVTCTVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIM
HQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMI
TDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPMIDTDGSYFVYSKLVNQKSNWEAGNTFTCSV
LHEGLHNHHTTEKSLSHSPGK

<SEQ ID NO: 24; PRT1; Artificial> (HC - mE8c)

EVQLLES~~GP~~ELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKQRPGQGLEWIGWINPGSGNTK
YNEKFKGKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTREGETVYWGQGTTLTVSSAKT
TAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT
LSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIF
PPKIKDVLMLSLSPIVTCVVDVSEDDPDVQISWVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVY
SALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSRAPQVYVLPPEEEMTKKQV
TLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERN
SYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

<SEQ ID NO: 25; PRT1; Artificial> (pE3-16) Pir-EFRHDSGYEVHHQK-biotina

<SEQ ID NO: 26; PRT1; Artificial> (E3-16) EFRHDSGYEVHHQK-biotina

<SEQ ID NO: 27; PRT1; Artificial> (pEG4) Pir-EGRHDSGYEVHHQK-biotina

<SEQ ID NO: 28; PRT1; Artificial> (mpE3-16) Pir-EFGHDSGFEVHHQK-biotina

<SEQ ID NO: 29; PRT1; Artificial> (pEG6) Pir-EFRGDSGYEVHHQK -biotina

<SEQ ID NO: 30; PRT1; Artificial> (pEG7) Pir-EFRHDSGYEVHHQK-biotina

<SEQ ID NO: 31; PRT1; Artificial> (LCVR - hE8-C6)

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWYLQKPGQSPQLLIYAVSKLDS
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIK

<SEQ ID NO: 32; PRT1; Artificial> (HCVR - hE8-C6)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGNT
KYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGETVYWGQGTTVTVSS

<SEQ ID NO: 33; PRT1; Artificial> (LC - hE8-C6)

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWYLQKPGQSPQLLIYAVSKLDS
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGGTKLEIKRTVAAPSVFI
FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRQAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

<SEQ ID NO: 34; PRT1; Artificial> (HC - hE8-C6)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGNT
KYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGETVYWGQGTTVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV

FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

<SEQ ID NO: 35; PRT1; Artificial> (LCDR2 - R17) AVSKLGS

<SEQ ID NO: 36; PRT1; Artificial> (LCVR - R17)

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWYLQKPGQSPQLLIYAVSKLGS
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGGTKLEIK

<SEQ ID NO: 37; PRT1; Artificial> (pEG8) Pir-EFRHDGGYEVHHQK-biotina

<SEQ ID NO: 38; PRT1; Artificial> (LC - R17)

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWYLQKPGQSPQLLIYAVSKLGS
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGGTKLEIKRTVAAPSVFI
FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

<SEQ ID NO: 39; PRT1; Artificial> (pEF10) Pir-EFRHDSGFVHHQK-biotina

<SEQ ID NO: 40; PRT1; Artificial> (HCDR1 - hE8L/CI-C7) GYTFTDYYIN

<SEQ ID NO: 41; PRT1; Artificial> (HCDR3 - hE8L) EGETVY

<SEQ ID NO: 42; PRT1; Artificial> (HCVR - hE8L)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGNT
KYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGETVYWGQGTTVTVSS

<SEQ ID NO: 43; ADN; Artificial> (HC ADN-R17L)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCAGTGAAG
 GTTTCCTGCAAGGCATCTGGTTACACCTTCACTAGATATTATATAAACTGGGTGCGAC
 AGGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTAATCCTGGAAGCGGTAATA
 CTAAGTACAATGAGAAATTCAAGGGCAGAGTCACCATTACCGCGGACGAATCCACGA
 GCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACT
 GTGCGAGAGAAGGCACAACGGTCTACTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCT
 CAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCTCCTCCAAGAGCACCTC
 TGGGGGACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC
 GGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCT
 ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTG
 GGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC
 AAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCA
 CCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCC AAAACCAAGGACACCC
 TCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAG
 ACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGA
 CAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG
 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAG
 CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
 CACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCC
 TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA
 ATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCCCCGTGTGGACTCCGACGGCT
 CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG
 TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCT
 CTCCCTGTCTCCGGGT

<SEQ ID NO: 44; PRT1; Artificial> (HC - hE8L)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGNT
KYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGETVYWGQGTTVTVSSAS
 TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
 YSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV
 FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
 YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL
 TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ<SEQ ID NO: 45; PRT1; Artificial> (LCDR1 - CI-C7) KSTRSLLYSRSKTYLN

<SEQ ID NO: 46; PRT1; Artificial> (HCDR3 - CI-C7) EGVTVY

<SEQ ID NO: 47; PRT1; Artificial> (LCVR - CI-C7)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKSTRSLLYSRSKTYLNWYQQKPGKAPKLLIYAVSKLD
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVQGTHYPFTFGGGKVEIK

<SEQ ID NO: 48; PRT1; Artificial> (HCVR - CI-C7)

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTDYYINWVRQMPGKGLEWMGWINPGSGNT
KYNEKFKGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAREGVTVYWGQGLVTVSS

<SEQ ID NO: 49; PRT1; Artificial> (LC - CI-C7)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKSTRSLLYSRSKTYLNWYQQKPGKAPKLLIYAVSKLDS
 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVQGTHYPFTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIF
 PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLS
 TLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

<SEQ ID NO: 50; PRT1; Artificial> (HC - CI-C7)

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTDYYINWVRQMPGKGLEWMGWINPGSGNT
KYNEKFKGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAREGVTVYWGQGLVTVSSA
 STKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
 LYSLSSTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS
 VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
 TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL
 TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
 QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

<SEQ ID NO: 51; PRT1; Secuencia Artificial> (LCDR1 consenso) KSX1X2SLLYSRX3KTYLN en la que x_1 es S o T, x_2 es Q o R, x_3 es G o S

<SEQ ID NO: 52; PRT1; Secuencia Artificial> (LCDR2 consenso) AVSKL x_4 S en la que x_4 es D o G

<SEQ ID NO: 53; PRT1; Secuencia Artificial> (HCDR1 consenso) GY x_5 FT x_6 YYIN en la que x_5 es D o T, x_6 es R o D

<SEQ ID NO: 54; PRT1; Secuencia Artificial> (HCDR3 consenso) EG x_7 TVY en la que x_7 es I, T, E o V

<SEQ ID NO: 55; PRT1; Secuencia Artificial> (LC ADN-B12L/R17L)

GATATTGTGATGACTCAGACTCCACTCTCCCTGTCCGTCACCCCTGGACAGCCGGCCT
 CCATCTCCTGCAAGTCAAGTCAGAGCCTCTTATATAGTCGCGGAAAAACCTATTTGAA
 TTGGCTCCTGCAGAAGCCAGGCCAATCTCCACAGCTCCTAATTTATGCGGTGTCTAAA
 CTGGACTCTGGGGTCCCAGACAGATTACAGCGGCAGTGGGTCAGGCACAGATTTTACA
 CTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCCGAAGATGTTGGGGTTTATTACTGCGTGCAAGGT
 ACACATTACCCATTACGTTTGGCCAAGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGAACTGTG
 GCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTG
 CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGA
 AGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGAC
 AGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTA
 CGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGT
 CACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

<SEQ ID NO: 56; PRT1; Secuencia Artificial> (HC ADN- B12L)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCAGTGAAG
 GTTTCCTGCAAGGCATCTGGTTACGACTTCACTAGATACTATATAAACTGGGTGCGAC
 AGGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTAATCCTGGAAGCGGTAATA
 CTAAGTACAATGAGAAATTCAAGGGCAGAGTCACCATACCGCGGACGAATCCACGA
 GCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACT
 GTGCGAGAGAAGGCATCACGGTCTACTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCT
 CAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCTCCTCCAAGAGCACCTC
 TGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC
 GGTGTGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTT
 ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTG
 GGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC
 AAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAGCA
 CCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCC
 TCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAG
 ACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGA
 CAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCG
 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAG
 CCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
 CACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCC
 TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA
 ATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT
 CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG
 TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCT
 CTCCTGTCTCCGGGT

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Eli Lilly and Company

<120> ANTICUERPOS ANTI PÉPTIDO BETA AMILOIDE N3pGlu Y USOS DE LOS MISMOS

<130> X19093

5 <150> 61/373026
<151> 12-08-2010

<150> PCT/US2011/046994
<151> 09-08-2011

<160> 56

10 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 42
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Sintética

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(42)

20 <223> Esta secuencia representa el beta amiloide 1-42

<400> 1

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

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

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

<210> 2
<211> 40
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> Sintética

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(40)

30 <223> Esta secuencia representa el beta amiloide N3pE

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)

35 <223> Xaa en la posición 1 = ácido piroglutámico

<400> 2

ES 2 764 728 T3

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

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

Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala
35 40

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

<220>
<223> Sintética

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(16)
<223> Esta secuencia representa LCDR1-B12L/R17L/he8L/R17
<400> 3

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

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

<220>
<223> Sintética

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(7)
<223> Esta secuencia representa LCDR2-B12L/R17L/he8L/CI-C7
<400> 4

Ala Val Ser Lys Leu Asp Ser
1 5

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

<220>
<223> Sintética

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(9)
<223> Esta secuencia representa LCDR3-B12L/R17L/he8L/R17/CI-C7
<400> 5

Val Gln Gly Thr His Tyr Pro Phe Thr
1 5

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

5

<220>
 <223> Sintética

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(10)
 <223> Esta secuencia representa HCDR1-B12L

10

<400> 6

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

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

15

<220>
 <223> Sintética

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(10)
 <223> Esta secuencia representa HCDR1-R17L/R17

20

<400> 7

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

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

25

<220>
 <223> Sintética

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

30

<400> 8

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

Gly

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

40

<220>
 <223> Sintética

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(6)

45

ES 2 764 728 T3

<223> Esta secuencia representa HCDR3-B12L

<400> 9

Glu Gly Ile Thr Val Tyr
1 5

<210> 10

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(6)

<223> Esta secuencia representa HCDR3-R17L/R17

<400> 10

Glu Gly Thr Thr Val Tyr
1 5

<210> 11

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(112)

<223> Esta secuencia representa LCVR-B12L/R17L/hE8L

<400> 11

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

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

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

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

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

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

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

<210> 12
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Sintética
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(115)
 10 <223> Esta secuencia representa HCVR-B12L
 <400> 12
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Asp Phe Thr Arg Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Gly Ile Thr Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115
 15 <210> 13
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <220>
 20 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(115)
 <223> Esta secuencia representa HCVR-R17L
 <400> 13

ES 2 764 728 T3

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

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

<220>
<223> Sintética

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(219)
<223> Esta secuencia representa LC-B12L/R17L

<400> 14

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

<210> 15

<211> 444

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(444)

<223> Esta secuencia representa HC-B12L

5

<400> 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ES 2 764 728 T3

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

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

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

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

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

<210> 16

<211> 444

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(444)

<223> Esta secuencia representa HC-R17L

<400> 16

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ES 2 764 728 T3

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

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

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

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

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

<220>
<223> Sintética

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(336)
<223> Esta secuencia representa LCVR ADN-B12L/R17L

<400> 17
gatattgtga tgactcagac tocactctcc ctgtccgtca cccctggaca gccggcctcc 60
atctcctgca agtcaagtca gagcctctta tatagtcgog gaaaaaccta tttgaattgg 120
ctcctgcaga agccaggcca atctccacag ctctctaattt atgcgggtgtc taaactggac 180
tctgggggtcc cagacagatt cagcggcagt gggtcaggca cagatttcac actgaaaatc 240
agcagggtgg aggccgaaga tggtgggggtt tattactgog tgcaaggtag acattaccca 300
ttcacgtttg gcccaaggac caagctggag atcaaa 336

<210> 18
<211> 345
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(345)
<223> Esta secuencia representa HCVR ADN-B12L

<400> 18

ES 2 764 728 T3

```

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc agtgaaggtt      60
tcctgcaagg catctgggta cgacttccact agatactata taaactgggt gcgacaggcc      120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg attaatcctg gaagcggtaa tactaagtac      180
aatgagaaat tcaagggcag agtcaccatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac      240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagaaggc      300
atcacggtct actggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctca                        345

```

<210> 19
 <211> 345
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Sintética

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(345)
 <223> Esta secuencia representa HCVR ADN-R17L

10

```

<400> 19
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc agtgaaggtt      60
tcctgcaagg catctgggta cacttccact agatattata taaactgggt gcgacaggcc      120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg attaatcctg gaagcggtaa tactaagtac      180
aatgagaaat tcaagggcag agtcaccatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac      240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagaaggc      300
acaacggtct actggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctca                        345

```

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

<220>
 <223> Sintética

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(112)
 <223> Esta secuencia representa LCVR-mE8

15

20

<400> 20

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

<210> 21

<211> 115

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <222> (1)..(115)

<223> Esta secuencia representa HCVR-mE8

<400> 21

[illegible]

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

<220>
<223> Sintética

```
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(219)
<223> Esta secuencia representa LC-mE8 and mE8c
<400> 22
```

```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

```

<210> 23
 <211> 439
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Sintética

$\langle 220 \rangle$

<221> MISC FEATURE

<222> (1)..(439)

<223> Esta secuencia representa HC-mE8

5

<400> 23

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val

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

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

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

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

Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435

<210> 24

<211> 445

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

10 <221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(445)

<223> Esta secuencia representa HC-mE8c

<400> 24

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val
405 410 415

Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn
420 425 430

His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 25

<211> 14

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <222> (1)..(14)

<223> Esta secuencia representa pE3-16

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

15 <223> Xaa en la posición 1 = ácido piroglutámico

<220>

<221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

<223> Lys en la posición 14 se modifica con biotina

20 <400> 25

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

<210> 26

<211> 14

<212> PRT

25 <213> secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<220>

<221> MISC_FEATURE

30 <222> (1)..(14)

<223> Esta secuencia representa E3-16

<220>

<221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

35 <223> Lys en la posición 14 se modifica con biotina

<400> 26

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

<210> 27

<211> 14
<212> PRT
<213> secuencia artificial

5 <220>
<223> Construcción sintética

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> Esta secuencia representa pEG4

10 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa en la posición 1 = ácido pirrolutámico

15 <220>
<221> MOD_RES
<222> (14)..(14)
<223> Lys en la posición 14 se modifica con biotina

<400> 27

Xaa Gly Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys

1 5 10

20 <210> 28
<211> 14
<212> PRT
<213> rattus rattus

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> Esta secuencia representa mpE3-16

25 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa en la posición 1 = ácido pirrolutámico

30 <220>
<221> MOD_RES
<222> (14)..(14)
<223> Lys en la posición 14 se modifica con biotina

35 <400> 28

Xaa Phe Gly His Asp Ser Gly Phe Glu Val His His Gln Lys

1 5 10

40 <210> 29
<211> 14
<212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

45 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> Esta secuencia representa pEG6

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)

50

<223> Xaa en la posición 1 = ácido piroglutámico

<220>

<221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

5 <223> Lys en la posición 14 se modifica con biotina

<400> 29

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

<210> 30

<211> 14

10 <212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<220>

15 <221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(14)

<223> Esta secuencia representa pEG7

<220>

<221> MISC_FEATURE

20 <222> (1)..(1)

<223> Xaa en la posición 1 = ácido piroglutámico

<220>

<221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

25 <223> Lys en la posición 14 se modifica con biotina

<400> 30

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

<210> 31

<211> 112

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

35 <221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(112)

<223> Esta secuencia representa LCVR-hE8-C6

<400> 31

ES 2 764 728 T3

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

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

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

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

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

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

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

<210> 32

<211> 115

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(115)

<223> Esta secuencia representa HCVR-hE8-C6

<400> 32

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

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

<220>
<223> Sintética

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(219)
<223> Esta secuencia representa LC-hE8-C6

<400> 33

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

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

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

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

ES 2 764 728 T3

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

<210> 34

<211> 444

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <222> (1)..(444)

<223> Esta secuencia representa HC-hE8-C6

<400> 34

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 35

<211> 7

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <222> (1)..(7)

<223> Esta secuencia representa LCDR2-R17

<400> 35

Ala Val Ser Lys Leu Gly Ser
1 5

<210> 36

15 <211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

20 <220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(112)

<223> Esta secuencia representa LCVR-R17

<400> 36

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

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

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

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

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

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

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

5

<210> 37

<211> 14

<212> PRT

<213> secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(14)

15

<223> Esta secuencia representa pEG8

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa en la posición 1 = ácido pirolutámico

20

<220>

<221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

<223> Lys en la posición 14 se modifica con biotina

<400> 37

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

25

<210> 38

<211> 219

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Sintética

<220>

<221> MISC FEATURE

<222> (1)..(219)

5 <223> Esta secuencia representa LC-R17

<400> 38

```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

```

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

5 <220>
<223> Construcción sintética

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
10 <223> Esta secuencia representa pEF10

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa en la posición 1 = ácido pirolutámico

15 <220>
<221> MOD_RES
<222> (14)..(14)
<223> Lys en la posición 14 se modifica con biotina

<400> 39

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

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

25 <220>
<223> Sintética

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(10)
30 <223> Esta secuencia representa HCDR1-hE8L/C1-C7

<400> 40

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

<210> 41
<211> 6
35 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(6)
40 <223> Esta secuencia representa HCDR3-hE8L

<400> 41

Glu Gly Glu Thr Val Tyr
1 5

45 <210> 42
<211> 115
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(115)

<223> Esta secuencia representa HCVR-hE8L

<400> 42

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 43

<211> 1332

<212> ADN

<213> secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1332)

<223> Esta secuencia representa HC ADN-R17L

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1332)

<223> Esta secuencia representa HC ADN-R17L

<400> 43

ES 2 764 728 T3

```

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc agtgaaggtt      60
tcttgcaagg catctggtta caccttcaact agatattata taaactgggt gcgacaggcc      120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg attaatcctg gaagcggtaa tactaagtac      180
aatgagaaat tcaagggcag agtcaccatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac      240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagaaggc      300
acaacggtct actggggcca agggaccacg gtcacogtct cctcagcctc caccaagggc      360
ccatcggtct tcccgctagc accctcctcc aagagcacct ctgggggcac agcggccctg      420
ggctgctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc      480
ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggtc gtcctacagt cctcaggact ctactcctc      540
agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg      600
aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaagttg agcccaaata ttgtgacaaa      660
actcacacat gccaccgtg cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc      720
ttcccccaa aaccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg      780
gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg      840
gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gagggacagt acaacagcac gtaccgtgtg      900
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag      960
gtctccaaca aagccctccc agccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag      1020

ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatccggg acgagctgac caagaaccag      1080
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatccagcg acatcgccgt ggagtgggag      1140
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcccc ccgtgctgga ctccgacggc      1200
tccttcttcc tctatagcaa gctcacctg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc      1260
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc      1320
ctgtctccgg gt                                             1332

```

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

5

<220>
 <223> Sintética

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

10

<400> 44

ES 2 764 728 T3

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

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

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

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

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

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

<210> 45

<211> 16

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <222> (1)..(16)

<223> Esta secuencia representa LCDR1-CI-C7

<400> 45

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

<210> 46

15 <211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(6)

<223> Esta secuencia representa HCDR3-CI-C7

<400> 46

Glu Gly Val Thr Val Tyr
1 5

25

<210> 47

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(112)

35 <223> Esta secuencia representa LCVR-CI-C7

<400> 47

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Thr Arg Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 48

<211> 115

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <222> (1)..(115)

<223> Esta secuencia representa HCVR-CI-C7

<400> 48

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 49
<211> 219
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1) .. (219)
<223> Esta secuencia representa LC-CI-C7

<400> 49

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Thr Arg Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

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

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

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

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

Thr His Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

	100		105		110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu	115		120		125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe	130		135		140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln	145		150		155
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		165		170	175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu		180		185	190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser		195		200	205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys	210		215		

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

<220>
 <223> Sintética

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

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

Lys Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Gly Val Thr Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
 115 120 125
 Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
 130 135 140
 Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
 145 150 155 160
 Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
 165 170 175
 Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
 180 185 190
 Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
 195 200 205
 Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
 210 215 220
 Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 51

<211> 16

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <222> (1)..(16)

<223> Esta secuencia representa LCDR1 consenso

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

15 <223> X en la posición 3 = S o T

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X en la posición 4 = Q o R

20 <220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> X en la posición 11 = G o S

<400> 51

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

25

<210> 52

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

 5 <220>
 <223> Sintética

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(7)
 <223> Esta secuencia representa LCDR2 consenso

 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> X en la posición 6 = D o G

 <400> 52

 15 Ala Val Ser Lys Leu Xaa Ser
 1 5

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

 20 <220>
 <223> Sintética

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(10)
 25 <223> Esta secuencia representa HCDR1 consenso

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X en la posición 3 = D o T

 30 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> X en la posición 6 = R o D

 <400> 53

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

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

 40 <220>
 <223> Sintética

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(6)
 45 <223> Esta secuencia representa HCDR3 consenso

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

<400> 54

Glu Gly Xaa Thr Val Tyr
1 5

5
<210> 55
<211> 657
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

10
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(657)
<223> Esta secuencia representa LC ADN-B12L/R17L

15
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(657)
<223> Esta secuencia representa LC ADN-B12L/R17L

<400> 55

gatattgtga tgactcagac tccactctcc ctgtccgtca cccttgga ggcggcctcc	60
atctcctgca agtcaagtca gagcctctta tatagtcgcg gaaaaaccta tttgaattgg	120
ctcctgcaga agccaggcca atctccacag ctccctaattt atgcggtgtc taaactggac	180
tctgggggtcc cagacagatt cagcggcagt gggtcaggca cagatttcac actgaaaatc	240
agcagggtgg aggcogaaga tgttggggtt tattactgcg tgcaaggtag acattaccca	300
ttcacgtttg gccaaaggac caagctggag atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc	360
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg	420
ctgaataact totatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa	480
tcgggtaact ccagagagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc	540
agcagcacc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa	600
gtcaccatc agggcctgag ctgcgccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgc	657

20
<210> 56
<211> 1332
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

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

<400> 56

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc agtgaaggtt	60
tcttgcaagg catctggtta cgacttcact agatactata taaactgggt gcgacaggcc	120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg attaatcctg gaagcggtaa tactaagtac	180
aatgagaaat tcaagggcag agtcaccatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac	240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagaaggc	300
atcacggtct actggggcca agggaccacg gtcacgctct cctcagcctc caccaagggc	360
ccatcgggtct tcccgctagc accctcctcc aagagcacct ctggggggcac agcggccctg	420
ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc	480
ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggtc gtctacagt cctcaggact ctactccctc	540
agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg	600
aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaagttg agcccaaadc ttgtgacaaa	660
actcacacat gccaccgtg occagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttctc	720
ttcccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga ccctgaggt cacatgcgtg	780
gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg	840
gaggtgcata atgccaagac aaagccgogg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg	900
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgaag	960
gtctccaaca aagccctccc agccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag	1020
ccccgagaac cacaggtgta caccctgcc ccatcccggg acgagctgac caagaaccag	1080
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag	1140
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcccc ccgtgctgga ctccgacggc	1200
tctttcttcc tctatagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc	1260
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc	1320
ctgtctccgg gt	1332

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo anti A β N3pGlu que comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) y una región variable de cadena pesada (HCVR), en el que LCDR1 es KSX1X2SLLYSRX3KTYLN (SEQ ID NO: 51), LCDR2 es AVSKLX4S (SEQ ID NO: 52), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5) y HCDR1 es GYX5FTX6YYIN (SEQ ID NO: 53), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGX7TVY (SEQ ID NO: 54), en el que X1 es S o T; X2 es Q o R, X3 es G o S, X4 es D o G, X5 es D o T, X6 es R o D y X7 es I, T, E o V, para su uso en la prevención de la enfermedad de Alzheimer.
2. Un anticuerpo anti A β N3pGlu que comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) y una región variable de cadena pesada (HCVR), en el que LCDR1 es KSX1X2SLLYSRX3KTYLN (SEQ ID NO: 51), LCDR2 es AVSKLX4S (SEQ ID NO: 52), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5) y HCDR1 es GYX5FTX6YYIN (SEQ ID NO: 53), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGX7TVY (SEQ ID NO: 54), en el que X1 es S o T; X2 es Q o R, X3 es G o S, X4 es D o G, X5 es D o T, X6 es R o D y X7 es I, T, E o V, para su uso en la prevención de una afección seleccionada de enfermedad de Alzheimer clínica o preclínica, enfermedad de Alzheimer prodrómica y AAC clínica o preclínica.
3. Un anticuerpo anti A β N3pGlu o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según la reivindicación 1 o para su uso según la reivindicación 2, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) y una región variable de cadena pesada (HCVR), en el que dicha LCVR comprende los polipéptidos LCDR1, LCDR2, LCDR3 y la HCVR comprende los polipéptidos HCDR1, HCDR2, HCDR3 que se seleccionan del grupo que consiste en:
 - a) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEQ ID NO: 3), LCDR2 es AVSKLDS (SEQ ID NO: 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYDFTRYIN (SEQ ID NO: 6), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGITVY (SEQ ID NO: 9);
 - b) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEQ ID NO: 3), LCDR2 es AVSKLDS (SEQ ID NO: 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFTRYIN (SEQ ID NO: 7), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGTTVY (SEQ ID NO: 10);
 - c) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEQ ID NO: 3), LCDR2 es AVSKLDS (SEQ ID NO: 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFTDYYIN (SEQ ID NO: 40), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGETVY (SEQ ID NO: 41);
 - d) LCDR1 es KSSQSLLYSRGKTYLN (SEQ ID NO: 3), LCDR2 es AVSKLGS (SEQ ID NO: 35), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFTRYIN (SEQ ID NO: 7), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGTTVY (SEQ ID NO: 10); o
 - e) LCDR1 es KSTRSLLYSRSKTYLN (SEQ ID NO: 45), LCDR2 es AVSKLDS (SEQ ID NO: 4), LCDR3 es VQGTHYPFT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFTDYYIN (SEQ ID NO: 40), HCDR2 es WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 8) y HCDR3 es EGVTVY (SEQ ID NO: 46).