



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO

(10) Identifikator
dokumenta:

HR P20211873 T1



HR P20211873 T1

(12) **PRIJEVOD PATENTNIH ZAHTJEVA
EUROPSKOG PATENTA**

(51) MKP:

C12N 1/19 (2006.01)
C12P 21/08 (2006.01)
C12N 1/38 (2006.01)
C12N 15/12 (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01)
C12P 21/00 (2006.01)

(46) Datum objave prijevoda patentnih zahtjeva: 04.03.2022.

(21) Broj predmeta: P20211873T

(22) Datum podnošenja : 08.05.2012.

(86) Broj međunarodne prijave: PCT/US2012036953
Datum podnošenja međunarodne prijave: 08.05.2012.

(96) Broj europske prijave patenta: EP 12789187.7
Datum podnošenja europske prijave patenta: 08.05.2012.

(87) Broj međunarodne objave: WO 2012161956
Datum međunarodne objave: 29.11.2012.

(97) Broj objave europske prijave patenta: EP 2710114 A2
Datum objave europske prijave patenta: 26.03.2014.

(97) Broj objave europskog patenta: EP 2710114 B1
Datum objave europskog patenta: 03.11.2021.

(31) Broj prve prijave: 201161488660 P (32) Datum podnošenja prve prijave: 20.05.2011. (33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US
201161496860 P 14.06.2011. US
201161496873 P 14.06.2011. US
201161525307 P 19.08.2011. US

(73) Nositelj patenta:

H. Lundbeck A/S, Ottiliavej 9, 2500 Valby, DK

(72) Izumitelji:

Patricia Dianne McNeill, 1333 South 290th Place, Federal Way, WA 98003, US

Nicole Janson, 8005 Talbot Road, Edmonds, WA 98026, US

Gary L. Lesnicki, 14625 NE 145th St., Apt. 204, Woodinville, WA 98072, US

Pei Qi, 2121 227th St. SE D305, Bothell, WA 98021, US

John A. Latham, 2409 10th Ave. NW, Seattle, WA 98119, US

Leon F. Garcia-Martinez, 4926 214th St. SE, Woodinville, WA 98072, US

(74) Zastupnik:

ZMP IP d.o.o., 10000 Zagreb, HR

(54) Naziv izuma:

**PROIZVODNJA VISOKE ČISTOĆE PROTEINA S VIŠE PODJEDINICA KAO ŠTO SU
PROTUTIJELA U TRANSFORMIRANIM MIKROBIMA KAO ŠTO JE PICHIA PASTORIS**

HR P20211873 T1

PATENTNI ZAHTEJEVI

1. Postupak za proizvodnju kompleksa s više podjedinica, koji sadrži:
 - (a) osiguravanje kulture koja sadrži stanice *Pichia pastoris* koje sadrže gene koji osiguravaju ekspresiju podjedinica navedenog kompleksa s više podjedinica;
 - (b) dodavanje bolusa etanola u navedenu kulturu, što rezultira koncentracijom etanola u navedenoj kulturi od između 0,5% i 1,5% (m/v); i
 - (c) dodavanje hrane koja sadrži najmanje jedan izvor ugljika koji se može fermentirati u navedenu kulturu, i uzgoj navedene kulture radi proizvodnje navedenog kompleksa s više podjedinica, naznačen time što navedeni kompleks s više podjedinica sadrži cijelo ili antitijelo pune duljine koje sadrži polipeptide teškog i lakog lanca, pri čemu navedeni kompleks s više podjedinica nije anti-NGF protutijelo koje sadrži polipeptidne sekvence SEQ ID NO: 401 i SEQ ID NO: 402.
2. Postupak prema patentnom zahtjevu 1, naznačen time što:
 - (i) bolus etanola pospešuje stvaranje stabilnih disulfidnih veza u odnosu na isti postupak koji se provodi u odsutnosti bolusa etanola;
 - (ii) postupak kultiviranja smanjuje relativno obilje jedne ili više varijanti povezanih s proizvodom u odnosu na isti postupak koji se provodi u odsutnosti bolusa etanola;
 - (iii) postupak kultiviranja smanjuje relativno obilje varijanti povezanih s proizvodom koje imaju veću ili nižu prividnu molekularnu masu od navedenog željenog protutijela kako je otkriveno kromatografijom isključivanja veličine ili gel elektroforezom u odnosu na isti postupak koji se provodi u odsutnosti bolusa etanola;
 - (iv) postupak kultiviranja smanjuje relativno obilje protutijela koja imaju aberantnu stehiometriju u odnosu na isti postupak koji se provodi u odsutnosti bolusa etanola;
 - (v) postupak kultiviranja smanjuje relativno obilje protutijela koja imaju aberantne disulfidne veze u odnosu na isti postupak koji se provodi u odsutnosti bolusa etanola;
 - (vi) postupak kultiviranja smanjuje relativno obilje protutijela koja imaju smanjeni cistein u odnosu na isti postupak koji se provodi u odsutnosti bolusa etanola;
 - (vii) postupak kultiviranja smanjuje relativno obilje protutijela koja imaju aberantnu glikozilaciju u odnosu na isti postupak koji se provodi u odsutnosti bolusa etanola;
 - (viii) postupak kultiviranja modulira stvaranje ili stabilnost disulfidnih veza između teških lanaca;
 - (ix) postupak kultiviranja modulira stvaranje ili stabilnost disulfidnih veza koje povezuju lake i teške lance navedenog protutijela;
 - (x) postupak kultiviranja smanjuje relativno obilje jedne ili više varijanti H1L1, H2L1, i H4L4 pridruženih proizvoda; ili
 - (xi) postupak kultiviranja povećava čistoću navedenog protutijela u odnosu na navedeni postupak koji se provodi u odsutnosti navedenog bolusa etanola.
3. Postupak prema patentnom zahtjevu 1 ili 2, naznačen time što:
 - (i) korak (b) rezultira koncentracijom etanola u navedenoj kulturi od između 0,7% i 1,5%, ili između 0,8% i 1,25% (m/v);
 - (ii) korak (b) rezultira koncentracijom etanola u navedenoj kulturi koja iznosi 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8% ili 0,9% (m/v);
 - (iii) korak (b) rezultira koncentracijom etanola u navedenoj kulturi koja iznosi 1,5%, 1,4%, 1,3%, 1,2%, 1,1%, 1,0%, 0,9%, 0,8%, 0,7%, 0,6%, ili 0,5% (m/v);
 - (iv) korak (b) obuhvaća dodavanje etanola u navedenu kulturu, dodavanje nosača koji sadrži etanol u navedenu kulturu, dodavanje navedenih stanica u medij ili nosač koji sadrži etanol, ili zamjenu dijela medija za uzgoj;
 - (v) bolus etanola se dodaje u medij za uzgoj tijekom vremenskog razdoblja između 1 i 20 minuta;
 - (vi) korak (c) obuhvaća opskrbu kisikom navedenih stanica;
 - (vii) korak (c) obuhvaća opskrbu kisikom navedenih stanica miješanjem kulture;
 - (viii) korak (c) obuhvaća opskrbu kisikom navedenih stanica dovodenjem u kontakt navedene kulture sa smjesom plinova koja sadrži kisik;
 - (ix) korak (c) uključuje dodavanje hrane koja sadrži jednu ili više od glukoze, etanola, citrata, sorbitola, ksiloze, trehaloze, arabinoze, galaktoze, fruktoze, melibioze, laktoze, maltoze, ramnoze, riboze, manose, manitola i rafinoze;
 - (x) postupak kultiviranja nadalje uključuje održavanje koncentracije etanola između gornje zadane vrijednosti i donje zadane vrijednosti tijekom koraka (c);
 - (xi) postupak kultiviranja nadalje uključuje održavanje koncentracije etanola između gornje zadane vrijednosti i donje zadane vrijednosti tijekom koraka (c), pri čemu je navedena donja zadana vrijednost 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8% ili 0,9% (m/v);
 - (xii) postupak kultiviranja nadalje uključuje održavanje koncentracije etanola između gornje zadane vrijednosti i donje zadane vrijednosti tijekom koraka (c) pri čemu je navedena gornja zadana vrijednost 1,5%, 1,4%, 1,3%, 1,2%, 1,1%, 1,0%, 0,9%, 0,8%, 0,7%, ili 0,6% (m/v); ili

(xiii) postupak kultiviranja nadalje uključuje održavanje koncentracije etanola između gornje zadane vrijednosti i donje zadane vrijednosti tijekom koraka (c), pri čemu je navedena donja zadana vrijednost 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8% ili 0,9% (m/v) i navedena gornja zadana vrijednost je 1,5%, 1,4%, 1,3%, 1,2%, 1,1%, 1,0%, 0,9%, 0,8%, 0,7%, ili 0,6% (m/v).

- 5 4. Postupak prema bilo kojem od patentnih zahtjeva 1 do 3, naznačen time što:
 - (i) koncentracija etanola se održava na zadanoj vrijednosti tijekom koraka (c);
 - (ii) koncentracija etanola se održava na zadanoj vrijednosti koja je 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1%, 1,1%, 1,2%, 1,3%, 1,4%, ili 1,5% (m/v) tijekom koraka (c);
 - 10 (iii) korak (c) uključuje održavanje koncentracije etanola u navedenoj kulturi između 0,7% i 1,5%, ili između 0,8% i 1,25% (m/v);
 - (iv) koncentracija etanola u kulturi iz koraka (c) održava se kontroliranjem proizvodnje etanola s navedenim stanicama ili dodavanjem etanola u navedenu kulturu;
 - (v) koncentracija etanola u kulturi iz koraka (c) održava se kontroliranjem proizvodnje etanola s navedenim stanicama ili dodavanjem etanola u navedenu kulturu, pri čemu korak kontrole proizvodnje etanola uključuje
 - 15 kontrolu jedne ili više od koncentracije glukoze, dostupnosti kisika, intenziteta miješanja, tlaka plina, brzine protoka dovedenog zraka ili druge plinske smjese, viskoznosti kulture, gustoće kulture, koncentracije kisika u dovedenom zraku ili drugoj plinskoj smjesi i temperature;
 - (vi) vrijeme između koraka (a) i koraka (b) je manje od 72 sata, manje od 48 sati, manje od 24 sata, manje od 12 sati, manje od 9 sati, manje od 6 sati, manje od 5 sati, manje od 4 sata, manje od 3 sata, manje od 90 minuta,
 - 20 manje od 30 minuta, manje od 5 minuta, ili manje od 1 minute;
 - (vii) vrijeme između koraka (b) i koraka (c) je manje od 10 sati, manje od 9 sati, manje od 8 sati, manje od 7 sati, manje od 6 sati, manje od 5 sati, manje od 4 sata, manje od 3 sata, manje od 2 sata, manje od 90 minuta, manje od 80 minuta, manje od 70 minuta, manje od 60 minuta, manje od 50 minuta, manje od 40 minuta, manje od 30 minuta, manje od 20 minuta, manje od 10 minuta, manje od 5 minuta, ili manje od 1 minute;
 - 25 (viii) kultura iz koraka (a) se proizvodi dodavanjem izvora ugljika u navedenu kulturu i uzgojem navedene kulture dok se ne iscrpi izvor ugljika;
 - (ix) kultura iz koraka (a) se proizvodi dodavanjem izvora ugljika u navedenu kulturu i uzgojem navedene kulture dok se ne iscrpi izvor ugljika, pri čemu navedeni izvor ugljika sadrži jedno ili više od: glicerola, glukoze, etanola, citrata, sorbitola, ksiloze, trehaloze, arabinoze, galaktoze, fruktoze, melibioze, laktoze,
 - 30 maltoze, ramnoze, riboze, manoze, manitola i rafinoze;
 - (x) kultura iz koraka (a) se proizvodi dodavanjem izvora ugljika u navedenu kulturu i uzgojem navedene kulture dok se ne iscrpi izvor ugljika pri čemu se iscrpljivanje izvora ugljika određuje otkrivanjem smanjenja metaboličke aktivnosti navedenih stanica *Pichia pastoris*;
 - (xi) kultura iz koraka (a) se proizvodi dodavanjem izvora ugljika u navedenu kulturu i uzgojem navedene kulture dok se ne iscrpi izvor ugljika pri čemu se iscrpljivanje izvora ugljika određuje otkrivanjem smanjenja metaboličke aktivnosti navedenih stanica *Pichia pastoris*, pri čemu se navedeno smanjenje metaboličke aktivnosti navedenih stanica *Pichia pastoris* identificira otkrivanjem smanjenja potrošnje kisika od strane navedenih stanica *Pichia pastoris*, otkrivanjem povećanja pH u kulturi, otkrivanjem stabilizacije mase vlažnih stanica, ili otkrivanjem povećanja koncentracije amonijaka u kulturi; ili
 - 40 (xii) kultura iz koraka (a) se proizvodi dodavanjem izvora ugljika u navedenu kulturu i uzgojem navedene kulture dok se ne iscrpi izvor ugljika pri čemu se iscrpljivanje izvora ugljika određuje otkrivanjem smanjenja metaboličke aktivnosti navedenih stanica *Pichia pastoris*, pri čemu se navedeno smanjenje metaboličke aktivnosti navedenih stanica *Pichia pastoris* identificira otkrivanjem smanjenja potrošnje kisika od strane navedenih stanica *Pichia pastoris*, otkrivanjem povećanja pH u kulturi, otkrivanjem stabilizacije mase vlažnih stanica, ili otkrivanjem povećanja koncentracije amonijaka u kulturi, pri čemu se navedeno smanjenje potrošnje kisika od strane stanica *Pichia pastoris* identificira otkrivanjem povećanja koncentracije otopljenog kisika u navedenoj kulturi.
- 5 5. Postupak prema bilo kojem od patentnih zahtjeva 1-4, naznačen time što:
 - (i) stanice *Pichia pastoris* sadrže gene integrirane u njihov genom koji osiguravaju ekspresiju navedenog protutijela pri čemu su navedeni geni integrirani u jedan ili više genomskih lokusa;
 - 50 (ii) stanice *Pichia pastoris* sadrže gene integrirane u njihov genom na lokusima odabranim iz skupine koju čine pGAP lokus, 3' AOX TT lokus; PpURA5; OCHI; AOX1; HIS4; GAP; pGAP; 3' AOX TT; ARG; i lokus HIS4 TT;
 - (iii) geni koji kodiraju podjedinice protutijela su eksprimirani pod kontrolom inducibilnog ili konstitutivnog promotora;
 - 55 (iv) geni koji kodiraju podjedinice protutijela su eksprimirani pod kontrolom inducibilnog promotora odabranog iz skupine koju čine AOX1, CUP1, tetraciklinom inducibilni, tiaminom inducibilni i FLD1 promotori;
 - (v) najmanje jedan od gena koji kodiraju navedene podjedinice protutijela su eksprimirani pod kontrolom promotora odabranog iz skupine koju čine: CUP1, AOX1, ICL1, gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza (GAP), FLD1, ADH1, alkoholna dehidrogenaza II, GAL4, PHO3, PHO5, i Pyk promotori, tetraciklinom inducibilni promotori, tiaminom inducibilni promotori, kimerni promotori izvedeni iz njih, promotori kvasca, promotori
 - 60

sisavaca, promotori insekata, promotori biljaka, promotori gmazova, promotori vodozemaca, virusni promotori, i ptičji promotori; i/ili

(xi) stanice *Pichia pastoris* su diploidne, tetraploidne ili poliploidne stanice.

6. Postupak prema bilo kojem od patentnih zahtjeva 1-5, naznačen time što nadalje sadrži najmanje jedno od slijedećeg:

- (i) pročišćavanje navedenog protutijela iz navedenih stanica *Pichia pastoris* ili iz medija za uzgoj;
- (ii) pročišćavanje navedenog protutijela iz unutarstanične komponente, citoplazme, nukleoplazme, ili membrane navedenih stanica *Pichia pastoris*;
- (iii) stanice *Pichia pastoris* izlučuju navedeno protutijelo u medij za uzgoj;
- (iv) pročišćavanje navedenog protutijela iz navedenog medija za uzgoj;
- (v) protutijelo sadrži monospecifično ili bispecifično protutijelo;
- (vi) protutijelo sadrži ljudsko protutijelo ili humanizirano protutijelo;
- (vii) protutijelo sadrži humanizirano protutijelo pri čemu je navedeno humanizirano protutijelo mišjeg, štakorskog, zečjeg, kozjeg, ovčjeg ili kravljeg podrijetla;

(viii) protutijelo sadrži humanizirano protutijelo zečjeg podrijetla;

(ix) protutijelo sadrži jednovalentno, dvovalentno ili multivalentno protutijelo;

(x) protutijelo je pročišćeno iz navedene kulture pomoću afiniteta za protein A i/ili protein G;

(xi) najmanje jedan od gena koji osiguravaju ekspresiju podjedinice navedenog protutijela u najmanje jednoj od navedenih stanica *Pichia pastoris* u navedenoj ploči optimiziran je za ekspresiju u navedenoj stanici kvasca;

(xii) čistoća navedenog protutijela procjenjuje se mjerenjem udjela protutijela proizvedenog od strane navedene stanice kvasca koji se nalazi u kompleksima protutijela koji imaju očekivani prividni hidrodinamički radijus, sadržan je u kompleksima protutijela očekivane molekularne mase, i / ili specifično veže metu navedenog protutijela;

(xiii) prinos navedenog protutijela procjenjuje se određivanjem količine protutijela proizvedenog od strane navedene stanice kvasca bez obzira na sve varijante povezane s proizvodom koje su abnormalno glikozilirane, sadržane u kompleksima protutijela, osim u kompleksima koji imaju očekivani prividni hidrodinamički radijus, sadržane u kompleksima antitijela imaju očekivanu molekularnu masu, i / ili da se ne mogu specifično vezati na cilj navedenog protutijela i molekularna masa navedenih kompleksa protutijela je izborno određena s ne-reducirajućim SDS-PAGE;

(xiv) navedeni postupak nadalje uključuje pročišćavanje navedenog protutijela;

(xv) stanice kulture proizvode titar supernatanta protutijela od najmanje 100 mg/L, najmanje 150 mg/L, najmanje 200 mg/L, najmanje 250 mg/L, najmanje 300 mg/L, između 100 i 300 mg/L, između 100 i 500 mg/L, između 100 i 1000 mg/L, najmanje 1000 mg/L, najmanje 1250 mg/litri, najmanje 1500 mg/litri, najmanje 1750 mg/litri, najmanje 2000 mg/litri, najmanje 10000 mg/litri, ili više;

(xvi) jedna ili više podjedinica navedenog protutijela su ekspimirane iz više od jedne kopije gena;

(xvii) protutijelo je ekspimirano iz između 1-10 kopija gena koji kodira laki lanac navedenog protutijela i iz 1-10 kopija gena koji kodira teški lanac navedenog protutijela, po izboru integriranih u genom navedenih stanica;

(xviii) geni koji osiguravaju ekspresiju navedenog protutijela nalaze se na ekstrakromosomskom elementu, plazmidu ili umjetnom kromosomu;

(xix) stanice *Pichia pastoris* sadrže više kopija gena koji osiguravaju ekspresiju lakog lanca navedenog protutijela nego kopije gena koji osiguravaju ekspresiju teškog lanca navedenog protutijela;

(xx) kultivirane stanice sadrže više kopija gena koji osiguravaju ekspresiju lakog lanca navedenog protutijela nego kopije gena koji osiguravaju ekspresiju teškog lanca navedenog protutijela, pri čemu odgovarajući broj kopija gena koji kodiraju teški lanac navedenog protutijela i broj kopija gena koji kodira laki lanac navedenog protutijela u navedenim stanicama je: 2 i 2, 2 i 3, 3 i 3, 3 i 4, 3 i 5, 4 i 3, 4 i 4, 4 i 5, 4 i 6, 5 i 4, 5 i 5, 5 i 6, ili 5 i 7; i

(xxi) kultivirane stanice sadrže više kopija gena koji osiguravaju ekspresiju lakog lanca navedenog protutijela nego kopije gena koji osiguravaju ekspresiju teškog lanca navedenog protutijela, i nadalje pri čemu odgovarajući broj kopija gena koji kodira teški lanac navedenog protutijela i broj kopija gena koji kodira laki lanac navedenog protutijela u navedenim stanicama je: 2 i 1, 3 i 1, 4 i 1, 5 i 1, 6 i 1, 7 i 1, 8 i 1, 9 i 1, 10 i 1, 1 i 2, 2 i 2, 3 i 2, 4 i 2, 5 i 2, 6 i 2, 7 i 2, 8 i 2, 9 i 2, 10 i 2, 1 i 3, 2 i 3, 3 i 3, 4 i 3, 5 i 3, 6 i 3, 7 i 3, 8 i 3, 9 i 3, 10 i 3, 1 i 4, 2 i 4, 3 i 4, 4 i 4, 5 i 4, 6 i 4, 7 i 4, 8 i 4, 9 i 4, 10 i 4, 1 i 5, 2 i 5, 3 i 5, 4 i 5, 5 i 5, 6 i 5, 7 i 5, 8 i 5, 9 i 5, 10 i 5, 1 i 6, 2 i 6, 3 i 6, 4 i 6, 5 i 6, 6 i 6, 7 i 6, 8 i 6, 9 i 6, 10 i 6, 1 i 7, 2 i 7, 3 i 7, 4 i 7, 5 i 7, 6 i 7, 7 i 7, 8 i 7, 9 i 7, 10 i 7, 1 i 8, 2 i 8, 3 i 8, 4 i 8, 5 i 8, 6 i 8, 7 i 8, 8 i 8, 9 i 8, 10 i 8, 1 i 9, 2 i 9, 3 i 9, 4 i 9, 5 i 9, 6 i 9, 7 i 9, 8 i 9, 9 i 9, 10 i 9, 1 i 10, 2 i 10, 3 i 10, 4 i 10, 5 i 10, 6 i 10, 7 i 10, 8 i 10, 9 i 10, 10 i 10.

7. Postupak prema bilo kojem od prethodnih patentnih zahtjeva, naznačen time što:

(i) kultura iz koraka (c) se uzgaja u mediju za proizvodnju;

(ii) kultura iz koraka (c) se uzgaja u mediju za proizvodnju koji sadrži minimalni medij;

(iii) kultura iz koraka (c) se uzgaja u mediju za proizvodnju koji sadrži minimalni medij kojem nedostaju selektivna sredstva;

(iv) kultura iz koraka (c) se uzgaja u mediju za proizvodnju koji sadrži minimalni medij kojem nedostaju prethodno formirane aminokiseline ili druge složene biomolekule;

(v) kultura iz koraka (c) se uzgaja u mediju za proizvodnju koji sadrži složeni medij;

(vi) kultura iz koraka (c) se uzgaja u mediju za proizvodnju koji sadrži složeni medij koji sadrži jedan ili više ekstrakta kvasca, sojinih peptona i drugih biljnih peptona;

(vii) kultura iz koraka (c) uzgaja se do visoke gustoće stanica;

(viii) kultura iz koraka (c) uzgaja se do gustoće stanica koja je najmanje 50 g/L;

(ix) kultura iz koraka (c) uzgaja se do gustoće stanica koja je najmanje 100 g/L;

(x) kultura iz koraka (c) uzgaja se do gustoće stanica koja je najmanje 300 g/L;

(xi) kultura iz koraka (c) uzgaja se do gustoće stanica koja je najmanje 400 g/L;

(xii) kultura iz koraka (c) uzgaja se do gustoće stanica koja je najmanje 500 g/L;

(xiii) kultura iz koraka (c) uzgaja se do gustoće stanica koja je najmanje 750 g/L;

(xiv) stanice *Pichia pastoris* iz koraka (c) uzgajaju se tijekom najmanje 20 udvostručenja i održavaju visoke razine ekspresije navedenog protutijela nakon navedenih najmanje 20 udvostručenja;

(xv) stanice *Pichia pastoris* iz koraka (c) uzgajaju se tijekom najmanje 50 udvostručenja i održavaju visoke razine ekspresije navedenog protutijela nakon navedenih najmanje 50 udvostručenja; ili

(xvi) stanice *Pichia pastoris* iz koraka (c) uzgajaju se tijekom najmanje 100 udvostručenja i održavaju visoke razine ekspresije navedenog protutijela nakon navedenih najmanje 100 udvostručenja.

8. Postupak prema bilo kojem od patentnih zahtjeva 1-7, naznačen time što je najmanje jedna podjedinica protutijela kodirana genom koji sadrži signal sekrecije pri čemu opcijski signal izlučivanja sadrži jedan ili više polipeptida odabranih iz skupine koju čine: SEQ ID NOS: 414 do 437 i bilo koja njihova kombinacija.

9. Postupak prema bilo kojem od patentnih zahtjeva 1 do 8, naznačen time što kompleks s više podjedinica ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS:5-10, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS: 15-20, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS:25-30, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS:35-40, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS:45-50, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS:55-60, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS:65-70, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS:75-80, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS:85-90, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS:95-100, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS: 105-110, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS: 115-120, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS: 125-130, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS:135-140, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS: 145-150, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS: 155-160, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS:165-170, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS:175-180, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS:185-190, ne sadrži svih šest CDR sekvenci iz SEQ ID NOS:195-200.

10. Postupak prema bilo kojem od patentnih zahtjeva 1 do 9, naznačen time što kompleks s više podjedinica nije anti-NGF protutijelo.

11. Postupak prema bilo kojem od patentnih zahtjeva 1 do 8 ili 10, naznačen time što kompleks s više podjedinica ne sadrži najmanje jedan, najmanje dva, najmanje tri, najmanje četiri, ili najmanje pet CDR-ova sadržanih u bilo kojem od sljedećih protutijela: protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS 5-10, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS:15-20, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 25-30, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 35-40, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 45-50, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 55-60, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 65-70, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 75-80, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 85-90, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 95-100, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 105-110, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 115-120, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 125-130, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 135-140, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 145-150, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 155-160, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 165-170, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 175-180, protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 185-190, ili protutijelu koje ima CDR sekvence iz SEQ ID NOS: 195-200 i po izboru ima specifičnost vezanja za NGF.