

CF



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

PCT

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21 EXPEDIENTE No.

03075554

54 TÍTULO

Moléculas de enlace Terapéuticas

51 CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

C07

71 SOLICITANTE

Novartis AG

DOMICILIO

Basilea, Suiza

74 APODERADO

Jimena Escobar Uribe.

22 BOGOTÁ, D. C.,

Septiembre 1, 2003

CF



FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

1

SOLICITUD DE:



Patente de Invención



Patente de Modelo de Utilidad



Capítulo I



Capítulo II

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: **NOVARTIS AG**

Dirección: Lichtstrasse 35

Nacionalidad o Domicilio: CH -4056 Basilea,
Suiza.

Lugar de Constitución : Suiza

Teléfono: 41613241111 Fax: 41613227532

E-mail

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Número

3

REPRESENTANTE
O APODERADO
(74)

Nombre: JIMENA ESCOBAR URIBE

Dirección: Cra. 11A No. 94-76 (Of. 305)

Teléfono: 6 162051/61 Fax: 6 161889

E-mail: tm-patent@escobaruribe.com

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Número 39.779.452T.P 68228

4

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: **VER ANEXOS**

Dirección:

Nacionalidad o domicilio:

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP02/01420

Fecha Febrero 11, 2002

Publicación Internacional No WO 02/072832 A2

Fecha Septiembre 19, 2002

6 TÍTULO (54) MOLECULAS DE ENLACE TERAPEUTICAS.

7 Clasificación Internacional (51)

C 07

A 61K39/395 A61K3/395

8 Prioridad

SI



NO



(33) País de Origen

GRAN BRETAÑA

(Reino Unido)

(32) Fecha

Febrero 12, 2001

(31) Número de Solicitud

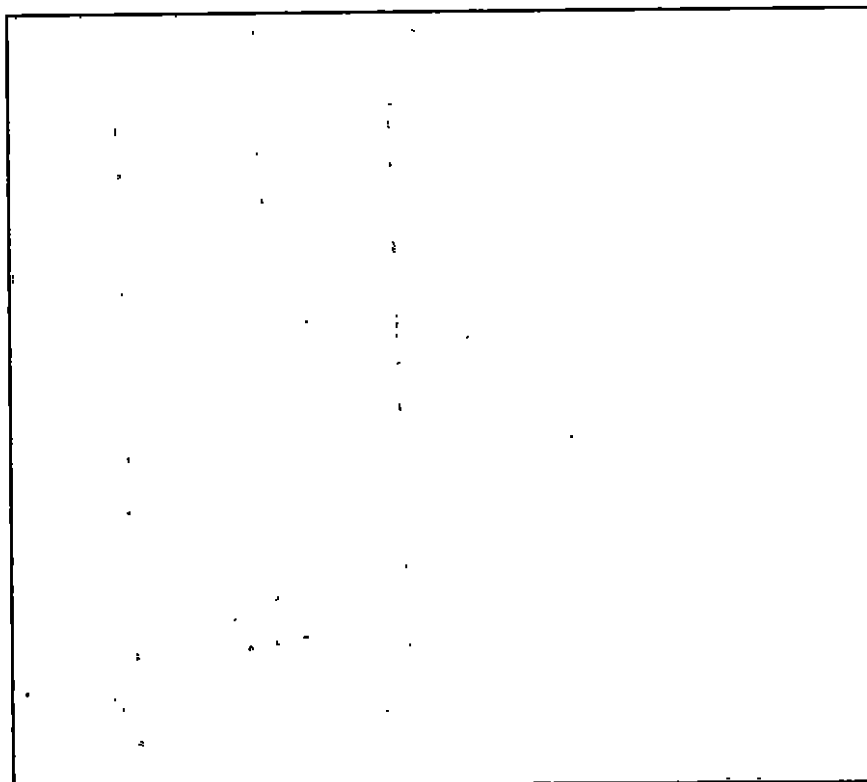
0103389.3

9 Comprobante de pago No. 03 - 46.206

Fecha Julio 3, 2003

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona Prot. 17.398
- ☒ Poderes si fuere el caso **Protocolo No. 17.398**
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia de contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12 X 12 .
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- ☐ Otros

11 FIGURA CARACTERÍSTICA



12 Solicito la concesión de la patente

NOMBRE: JIMENA ESCOBAR URIBE

FIRMA: 

C.C. 39.779.452 DE Usaquén T.P. 68.228

As. 2583/PCT

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 83875554 88888888 Folios: 218
Fecha (AMD): 2003-09-01 16:16:10
Tramite : 811 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 03 - 46,206
FECHA : JULIO 3 DE 2003

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
ESCOBAR URIBE ASOCIADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	9919420	03/07/2003	8,486,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	400,000.00
	TOTAL :	\$ 400,000.00

SON: CUATROCIENTOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ANEXOS

INVENTORES

1.)

GREGORIO AVERSA

(1130 Vienna, Austria);

2.)

FRANK KOLBINGER

(79395 Neuenburg, Alemania);

3.)

JOSÉ M. CARBALLIDO HERRERA

(1235 Vienna, Austria);

4.)

ANDRÁS ASZÓDI

(1140 Vienna, Austria);

5.)

JOSÉ W. SALDANHA

(London EN1 3BD, Reino Unido);

6.)

BRUCE M. HALL

(Strathfield, NSW 2135, Australia).

Solicito expresamente a nombre de la sociedad
NOVARTIS AG., sociedad constituida de
conformidad con las leyes de SUIZA, domiciliada en
Lichtstrasse 35, CH-4056 Basilea, Suiza, el
otorgamiento de Patente para la invención titulada
"MOLECULAS DE ENLACE TERAPEUTICAS".

Clase: C 07


JIMENA ESCOBAR URIBE
C.C. 39.779.452 de Usaquen
T.P. 68.228

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA DE ACUERDO CON EL TRATADO DE COOPERACIÓN
EN MATERIA DE PATENTES (TCP)
OMPI

(19) Organización Mundial de la Propiedad Intelectual Oficina Internacional	TCP	(10) Número de la Publicación Internacional: WO 02/072832 A2
(43) Fecha de la Publicación Internacional: 19 de septiembre 2002 (19.09.2002)		
(51) Clasificación de Patente Internacional ¹ : C12N 15/13, C07K 16/28, C12N 15/79, 15/10, A61K 39/395, A61P		(74) Agente: BECKER, Konrad; Novartis AG, Corporación de Propiedad Intelectual, Departamento de Patentes y Marcas, CH-4002 Basel (CH).
(21) Número de Solicitud Internacional: PCT/EP02/01420		(81) Estados Designados (nacionales): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MK, MN, MX, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
(22) Fecha de Presentación Internacional: 11 de febrero de 2002 (11.02.2002)		(84) Estados Designados (regionales): Patente Eurasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Patente Europea (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).
(25) Idioma de Presentación: Inglés		Publicado: - Sin reporte de búsqueda internacional y la publicación se repite al momento de recibirse el reporte.
(26) Idioma de Publicación: Inglés		Para los códigos de dos letras y otras abreviaturas, refiérase a las "Notas de Guía sobre códigos y abreviaturas" que aparecen al principio de cada publicación regular de la gaceta del TCP.
(30) Información de Prioridad: 0103389.3 12 de febrero 2001 (12.02.2001) GB		
(71) Solicitante: (para todos los Estados designados excepto AT, US): NOVARTIS AG [CH/CH]; Lichtstrasse 35, CH-4036 Basel (CH).		
(71) Solicitante: (solo para AT): NOVARTIS-ERFINDUNGEN VERWALTUNGSGESELLSHAFT M.B.H. [AT/AT]; Brunner Strasse 59, A-1230 Vienna (AT).		
(72) Inventores; y		
(75) Inventores/Solicitantes (solo para US): AVERSA, Gregorio [IT/AT]; trautmansdorffgasse 11/7, A-1130 Vienna (AT). KOLBINGER, Frank [DE/DE]; Thuner Ring,4 79395 Neuenburg (DE). CARBALLIDO HERRERA, José M. [ES/AT]; Woebergasse 27, A-1235 Vienna (AT). ASZÓDI, András [HU/AT]; Bujattigasse 15B/19, A-1140 Vienna (AT). SALDANHA, José W. [GB/GB]; 21 Fillebrook Avenue, Enfield, London EN1 3BD (GB). HALL, Bruce, M. [AU/AU]; 14 Vernon Street, Strathfield, NSW 2135 (AU).		
(54) Título: MOLECULAS DE ENLACE TERAPEUTICAS		
(57) Resumen: Una molécula que comprende cuando menos un sitio de enlace de antígeno, la cual comprende, en la secuencia, las regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3, teniendo la CDR1 la secuencia de aminoácidos Asn-Tyr-Ile-Ile-His (NYIH), teniendo la CDR2 la secuencia de aminoácidos Tyr-Phe-Asn-Pro-Tyr-Asn-His-Gly-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-Lys-Gly (YFNPYNHGTKYNEKFKG) y teniendo la CDR3 la secuencia de aminoácidos Ser-Gly-Pro-Tyr-Ala-Trp-Phe-Asp-Thr (SGPYAWFDT); por ejemplo, que comprende además en la secuencia, las regiones hipervariables CDR1', CDR2', y CDR3', teniendo la CDR1' la secuencia de aminoácidos Arg-Ala-Ser-Gln-Asn-Ile-Gly-Thr-Ser-Ile-Gln (8RASQNIGTSIQ), teniendo la CDR' la secuencia de aminoácidos Ser-Ser-Ser-Glu-Ser-Ile-Ser (SSSESIS), y teniendo la CDR3' la secuencia de aminoácidos Gln-Gln-Ser-Asn-Thr-Trp-Pro-Phe-Thr (QQSNTWPFT), por ejemplo un anticuerpo quimérico o humanizado, útil como un producto farmacéutico.		

WO 02/072832 A2

PCT

REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

For receiving Office use only	
International Application No.	PCT/EP 0 2 / 0 1 4 2 0
International Filing Date	11 FEB 2002 (11 02 2002)
EUROPEAN PATENT OFFICE PCT INTERNATIONAL APPLICATION	
Name of receiving Office and "PCT Application"	
Applicant's or agent's file reference (if desired) (12 characters maximum) 4-31627A/NFI 9963	

Box No. I TITLE OF INVENTION THERAPEUTIC BINDING MOLECULES	
Box No. II APPLICANT ☐ This person is also inventor	
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.) Novartis AG Lichtstrasse 35 4056 Basel CH	Telephone No. +41 61 324 11 11 Facsimile No. +41 61 322 75 32 Teleprinter No. Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality: CH	State (that is, country) of residence: CH
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☒ the States indicated in the Supplemental Box	
Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)	
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.) Novartis-Erfindungen Verwaltungsgesellschaft m.b.H. Brunner Strasse 59 1230 Vienna AT	This person is: ☒ applicant only ☐ applicant and inventor ☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.) Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality: AT	State (that is, country) of residence: AT
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☒ the States indicated in the Supplemental Box	
☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.	
Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE	
The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as: ☒ agent ☐ common representative	
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.) BECKER, Konrad Novartis AG Corporate Intellectual Property Patent & Trademark Department 4002 Basel CH	Telephone No. +41 61 324 11 11 Facsimile No. +41 61 322 75 32 Teleprinter No. Agent's registration No. with the Office
☐ Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.	

Sheet No. ...2...

Continuation of Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S) <i>If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.</i>			
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> AVERSA, Gregorio Trauttmansdorffgasse 11/7 1130 Vienna AT		This person is: ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below.)</i> Applicant's registration No. with the Office	
State <i>(that is, country)</i> of nationality: IT		State <i>(that is, country)</i> of residence: AT	
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box			
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> KOLBINGER, Frank Thuner Ring 4 79395 Neuenburg DE		This person is: ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below.)</i> Applicant's registration No. with the Office	
State <i>(that is, country)</i> of nationality: DE		State <i>(that is, country)</i> of residence: DE	
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box			
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> CARBALLIDO HERRERA, José M. Woebergasse 27 1235 Vienna AT		This person is: ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below.)</i> Applicant's registration No. with the Office	
State <i>(that is, country)</i> of nationality: ES		State <i>(that is, country)</i> of residence: AT	
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box			
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> ASZÓDI, András Bujattigasse 15B/19 1140 Vienna AT		This person is: ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below.)</i> Applicant's registration No. with the Office	
State <i>(that is, country)</i> of nationality: HU		State <i>(that is, country)</i> of residence: AT	
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box			
☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.			

Continuation of Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S).

If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.) SALDANHA, José W. 21 Fillebrook Avenue Enfield, London EN1 3BD GB		This person is: ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)
		Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality: GB	State (that is, country) of residence: GB	
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box		
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)		This person is: ☐ applicant only ☐ applicant and inventor ☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)
		Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality:	State (that is, country) of residence:	
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box		
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)		This person is: ☐ applicant only ☐ applicant and inventor ☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)
		Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality:	State (that is, country) of residence:	
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box		
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)		This person is: ☐ applicant only ☐ applicant and inventor ☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)
		Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality:	State (that is, country) of residence:	
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box		
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)		This person is: ☐ applicant only ☐ applicant and inventor ☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)
		Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality:	State (that is, country) of residence:	
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box		
☐ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.		

Sheet No. ...4...

Box No. V DESIGNATION OF STATES

Mark the applicable check-boxes below; at least one must be marked.

The following designations are hereby made under Rule 4.9(a):

Regional Patent

- ☐ AP ARIPO Patent: GH Ghana, GM Gambia, KE Kenya, LS Lesotho, MW Malawi, MZ Mozambique, SD Sudan, SL Sierra Leone, SZ Swaziland, TZ United Republic of Tanzania, UG Uganda, ZM Zambia, ZW Zimbabwe, and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line)
- ☒ EA Eurasian Patent: AM Armenia, AZ Azerbaijan, BY Belarus, KG Kyrgyzstan, KZ Kazakhstan, MD Republic of Moldova, RU Russian Federation, TJ Tajikistan, TM Turkmenistan, and any other State which is a Contracting State of the Eurasian Patent Convention and of the PCT
- ☒ EP European Patent: AT Austria, BE Belgium, CH & LI Switzerland and Liechtenstein, CY Cyprus, DE Germany, DK Denmark, ES Spain, FI Finland, FR France, GB United Kingdom, GR Greece, IE Ireland, IT Italy, LU Luxembourg, MC Monaco, NL Netherlands, PT Portugal, SE Sweden, TR Turkey, and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT
- ☐ OA OAPI Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Central African Republic, CG Congo, CI Côte d'Ivoire, CM Cameroon, GA Gabon, GN Guinea, GQ Equatorial Guinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauritania, NE Niger, SN Senegal, TD Chad, TG Togo, and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line)

National Patent (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line):

- | | | |
|---|--|---|
| ☒ AE United Arab Emirates | ☐ GM Gambia | ☒ NZ New Zealand |
| ☒ AG Antigua and Barbuda | ☒ HR Croatia | ☒ OM Oman |
| ☒ AL Albania | ☒ HU Hungary | ☒ PH Philippines |
| ☒ AM Armenia | ☒ ID Indonesia | ☒ PL Poland |
| ☒ AT Austria | ☒ IL Israel | ☒ PT Portugal |
| ☒ AU Australia | ☒ IN India | ☒ RO Romania |
| ☒ AZ Azerbaijan | ☒ IS Iceland | ☒ RU Russian Federation |
| ☒ BA Bosnia and Herzegovina | ☒ JP Japan | |
| ☒ BB Barbados | ☒ KE Kenya | ☐ SD Sudan |
| ☒ BG Bulgaria | ☒ KG Kyrgyzstan | ☒ SE Sweden |
| ☒ BR Brazil | ☒ KP Democratic People's Republic of Korea | ☒ SG Singapore |
| ☒ BY Belarus | ☒ KR Republic of Korea | ☒ SI Slovenia |
| ☒ BZ Belize | ☒ KZ Kazakhstan | ☒ SK Slovakia |
| ☒ CA Canada | ☒ LC Saint Lucia | ☐ SL Sierra Leone |
| ☒ CH & LI Switzerland and Liechtenstein | ☒ LK Sri Lanka | ☒ TJ Tajikistan |
| ☒ CN China | ☐ LR Liberia | ☒ TM Turkmenistan |
| ☒ CO Colombia | ☐ LS Lesotho | ☒ TN Tunisia |
| ☒ CR Costa Rica | ☒ LT Lithuania | ☒ TR Turkey |
| ☒ CU Cuba | ☒ LU Luxembourg | ☒ TT Trinidad and Tobago |
| ☒ CZ Czech Republic | ☒ LV Latvia | |
| ☒ DE Germany | ☒ MA Morocco | ☐ TZ United Republic of Tanzania |
| ☒ DK Denmark | ☒ MD Republic of Moldova | ☒ UA Ukraine |
| ☒ DM Dominica | | ☐ UG Uganda |
| ☒ DZ Algeria | ☐ MG Madagascar | ☒ US United States of America |
| ☒ EC Ecuador | ☒ MK The former Yugoslav Republic of Macedonia | |
| ☒ EE Estonia | ☒ MN Mongolia | ☒ UZ Uzbekistan |
| ☒ ES Spain | ☐ MW Malawi | ☒ VN Viet Nam |
| ☒ FI Finland | ☒ MX Mexico | ☒ YU Yugoslavia |
| ☒ GB United Kingdom | ☐ MZ Mozambique | ☒ ZA South Africa |
| ☒ GD Grenada | ☒ NO Norway | ☐ ZM Zambia |
| ☒ GE Georgia | | ☒ ZW Zimbabwe |
| ☒ GH Ghana | | |

Check-boxes below reserved for designating States which have become party to the PCT after issuance of this sheet:

- | | | |
|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| ☐ | ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ | ☐ |

Precautionary Designation Statement: In addition to the designations made above, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all other designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) indicated in the Supplemental Box as being excluded from the scope of this statement. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit. (Confirmation (including fees) must reach the receiving Office within the 15-month time limit.)

Supplemental Box *If the Supplemental Box is not used, this sheet should not be included in the request.*

1. *If, in any of the Boxes, except Boxes Nos. VIII(1) to (v) for which a special continuation box is provided, the space is insufficient to furnish all the information: in such case, write "Continuation of Box No." (indicate the number of the Box) and furnish the information in the same manner as required according to the captions of the Box in which the space was insufficient, in particular:*
 - (i) *if more than two persons are to be indicated as applicants and/or inventors and no "continuation sheet" is available: in such case, write "Continuation of Box No. III" and indicate for each additional person the same type of information as required in Box No. III. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below;*

Continuation of Box No. II
Novartis AG is applicant for all designated States with the exception of: AT (Austria) and US (USA)
 - (ii) *if, in Box No. II or in any of the sub-boxes of Box No. III, the indication "the States indicated in the Supplemental Box" is checked: in such case, write "Continuation of Box No. II" or "Continuation of Box No. III" or "Continuation of Boxes No. II and No. III" (as the case may be), indicate the name of the applicant(s) involved and, next to (each) such name, the State(s) (and/or, where applicable, ARIPO, Eurasian, European or OAPI patent) for the purposes of which the named person is applicant;*

Continuation of Box No. III
Novartis-Erfindungen Verwaltungsgesellschaft m.b.H. is applicant for AT (Austria) only.
 - (iii) *if, in Box No. II or in any of the sub-boxes of Box No. II, the inventor or the inventor/applicant is not inventor for the purposes of all designated States or for the purposes of the United States of America: in such case, write "Continuation of Box No. II" or "Continuation of Box No. III" or "Continuation of Boxes No. II and No. III" (as the case may be), indicate the name of the inventor(s) and, next to (each) such name, the State(s) (and/or, where applicable, ARIPO, Eurasian, European or OAPI patent) for the purposes of which the named person is inventor;*
 - (iv) *if, in addition to the agent(s) indicated in Box No. IV, there are further agents: in such case, write "Continuation of Box No. IV" and indicate for each further agent the same type of information as required in Box No. IV;*
 - (v) *if, in Box No. V, the name of any State (or OAPI) is accompanied by the indication "patent of addition," or "certificate of addition," or if, in Box No. V, the name of the United States of America is accompanied by an indication "continuation" or "continuation-in-part": in such case, write "Continuation of Box No. V" and the name of each State involved (or OAPI), and after the name of each such State (or OAPI), the number of the parent title or parent application and the date of grant of the parent title or filing of the parent application;*
 - (vi) *if, in Box No. VI, there are more than five earlier applications whose priority is claimed: in such case, write "Continuation of Box No. VI" and indicate for each additional earlier application the same type of information as required in Box No. VI.*
2. *If, with regard to the precautionary designation statement contained in Box No. V, the applicant wishes to exclude any State(s) from the scope of that statement: in such case, write "Designation(s) excluded from precautionary designation statement" and indicate the name or two-letter code of each State so excluded.*

Box No. VI PRIORITY CLAIM				
The priority of the following earlier application(s) is hereby claimed:				
Filing date of earlier application (day/month/year)	Number of earlier application	Where earlier application is:		
		national application: country	regional application:* regional Office	international application: receiving Office
item (1) 12 February 2001 (12.02.2001)	0103389.3	GB		
item (2)				
item (3)				
item (4)				
item (5)				
☐ Further priority claims are indicated in the Supplemental Box.				
The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) (only if the earlier application was filed with the Office which for the purposes of this international application is the receiving Office) identified above as:				
☐ all items ☐ item (1) ☐ item (2) ☐ item (3) ☐ item (4) ☐ item (5) ☐ other, see Supplemental Box				
* Where the earlier application is an ARIPO application, indicate at least one country party to the Paris Convention for the Protection of Industrial Property or one Member of the World Trade Organization for which that earlier application was filed (Rule 4.10(b)(ii)):				
Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY				
Choice of International Searching Authority (ISA) (if two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used):				
ISA /				
Request to use results of earlier search; reference to that search (if an earlier search has been carried out by or requested from the International Searching Authority):				
Date (day/month/year)	Number	Country (or regional Office)		
Box No. VIII DECLARATIONS				
The following declarations are contained in Boxes Nos. VIII (i) to (v) (mark the applicable check-boxes below and indicate in the right column the number of each type of declaration):				Number of declarations
☐ Box No. VIII (i)	Declaration as to the identity of the inventor			:
☐ Box No. VIII (ii)	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent			:
☐ Box No. VIII (iii)	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application			:
☐ Box No. VIII (iv)	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)			:
☐ Box No. VIII (v)	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty			:

Sheet No.7....

Box No. IX CHECK LIST; LANGUAGE OF FILING

This international application contains:		This international application is accompanied by the following item(s) (mark the applicable check-boxes below and indicate in right column the number of each item):		Number of items
(a) the following number of sheets in paper form:				
request (including declaration sheets)	: 7	1. ☒ fee calculation sheet	:	1
description (excluding sequence listing part)	: 57	2. ☐ original separate power of attorney	:	1
claims	: 4	3. ☐ original general power of attorney	:	
abstract	: 1	4. ☒ copy of general power of attorney; reference number, if any: AV. 36871 + 37586	:	2
drawings	: 5	5. ☐ statement explaining lack of signature	:	
Sub-total number of sheets	: 74	6. ☒ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s):	:	1
sequence listing part of description (actual number of sheets if filed in paper form, whether or not also filed in computer readable form; see (b) below)	: 0	7. ☐ translation of international application into (language):	:	
Total number of sheets	: 74	8. ☐ separate indications concerning deposited microorganism or other biological material	:	
(b) sequence listing part of description filed in computer readable form		9. ☐ sequence listing in computer readable form (indicate also type and number of carriers (diskette, CD-ROM, CD-R or other))	:	
(i) ☐ only (under Section 801(a)(i))		(i) ☐ copy submitted for the purposes of international search under Rule 13ter only (and not as part of the international application)	:	
(ii) ☐ in addition to being filed in paper form (under Section 801(a)(ii))		(ii) ☐ (only where check-box (b)(i) or (b)(ii) is marked in left column) additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Rule 13ter	:	
Type and number of carriers (diskette, CD-ROM, CD-R or other) on which the sequence listing part is contained (additional copies to be indicated under item 9(ii), in right column):		(iii) ☐ together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the sequence listing part mentioned in left column	:	
		10. ☐ other (specify):	:	
Figure of the drawings which should accompany the abstract:		Language of filing of the international application:		

Box No. X SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request).

In the name of the applicants
The representative

H. Becker

29.01.2002

BECKER, Konrad, AV 36871 + 37586

For receiving Office use only		2. Drawings: ☒ received: ☐ not received:
1. Date of actual receipt of the purported international application:	11.02.02 11 FEB 2002	
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:		
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):		
5. International Searching Authority (if two or more are competent): ISA /	6. ☐ Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

For International Bureau use only

Date of receipt of the record copy
by the International Bureau:

PATENT COOPERATION TREATY

13

PCT/EP02/01420
28. Juni 2002
PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

BECKER, Konrad
Novartis AG
Corporate Intellectual Property
Patent & Trademark Department
CH-4002 Basel
SUISSE

Date of mailing (day/month/year) 17 June 2002 (17.06.02)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 4-31627A/NFI 9963	
International application No. PCT/EP02/01420	International filing date (day/month/year) 11 February 2002 (11.02.02)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address HALL, Bruce, M. 14 Vernon Street Strathfield, NSW 2135 Australia	State of Nationality AU	State of Residence AU
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person ☒ the name ☒ the address ☒ the nationality ☒ the residence

Name and Address	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	

3. Further observations, if necessary:

Added inventor / applicant for the purpose of the US only.

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office ☐ the designated Offices concerned
☒ the International Searching Authority ☐ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority ☐ other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer <i>Dorothee Mulhausen</i> Dorothee MULHAUSEN Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	--

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE
PATENTES

De LA OFICINA INTERNACIONAL

TCP NOTIFICACIÓN DEL REGISTRO DE UN CAMBIO (TCP Regla 92bis.1 e Instrucciones Administrativas, Sección 422)		Para: BECKER, Konrad Novartis AG Corporate Intellectual Property Patent & Trademark Department CH-4002 Basel Suiza		
Fecha de Envío (día/mes/año) 17 de Junio de 2002 (17.06.02)				
Referencia del expediente del agente o el Solicitante 4-31627A/NFI 9963		NOTIFICACIÓN IMPORTANTE		
Solicitud Internacional No. PCT/EP02/01420		Fecha de Presentación Internacional (día/mes/año) 11 de Febrero de 2002 (11.02.02)		
1. Las siguientes indicaciones aparecieron en el registro sobre: [x] el solicitante [x] el inventor [] el agente [] el representante común				
Nombre y Dirección HALL, Bruce, M. 14 Vernon Street Strathfield, NSW 2135 Australia		Edo de Nacionalidad		Estado de Residencia de
		AU		AU
		Teléfono No.		
		Facsímil No.		
		Teleimpresor No.		
2. La Oficina Internacional notifica por la presente al solicitante que el siguiente cambio ha sido registrado sobre: [x] la persona [x] el nombre [x] la dirección [x] la nacionalidad [x] la residencia				
Nombre y Dirección		Edo de Nacionalidad		Estado de Residencia
		Teléfono No.		
		Facsímil No.		
		Teleimpresor No.		
3. Observaciones adicionales, si son necesarias: Se agregó inventor / solicitante para EUA únicamente.				
4. Una copia de esta notificación ha sido enviada a: [x] la Oficina Receptora [] las Oficinas designadas interesadas [x] la Autoridad de Búsqueda Internacional [] las Oficinas elegidas interesadas [] la Autoridad Examinadora Preliminar Internacional [] Otra:				
La Oficina Internacional de WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsímil No. (41-22) 740.14.35		Funcionario Autorizado Dorothee MULHAUSEN Firmado Teléfono No. (41-22) 338.83.38-		

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

NOVARTIS AG
Corporate Intellectual Property
Attn. Becker, Konrad
Patent & Trademark Department
4002 Basel
SWITZERLAND

Corporate Intellectual Property

06. Juni 2003

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
OF THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

APPL. M/D /L PS Copy:

Date of mailing
(day/month/year)

06/06/2003

Applicant's or agent's file reference

4-31627A/NFI 9963

FOR FURTHER ACTION

See paragraphs 1 and 4 below

International application No.

PCT/EP 02/ 01420

International filing date

(day/month/year)

11/02/2002

Applicant

NOVARTIS AG

1. ☒ The applicant is hereby notified that the International Search Report has been established and is transmitted herewith.

Filing of amendments and statement under Article 19:

The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the International Application (see Rule 46):

When? The time limit for filing such amendments is normally 2 months from the date of transmittal of the International Search Report; however, for more details, see the notes on the accompanying sheet.

Where? Directly to the International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no International Search Report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect is transmitted herewith.

3. ☐ With regard to the protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:

☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.

☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. Further action(s): The applicant is reminded of the following:

Shortly after 18 months from the priority date, the International application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the International application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for International publication.

Within 19 months from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase until 30 months from the priority date (in some Offices even later).

Within 20 months from the priority date, the applicant must perform the prescribed acts for entry into the national phase before all designated Offices which have not been elected in the demand or in a later election within 19 months from the priority date or could not be elected because they are not bound by Chapter II.

Name and mailing address of the International Searching Authority



European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

These Notes are intended to give the basic instructions concerning the filing of amendments under article 19. The Notes are based on the requirements of the Patent Cooperation Treaty, the Regulations and the Administrative Instructions under that Treaty. In case of discrepancy between these Notes and those requirements, the latter are applicable. For more detailed information, see also the PCT Applicant's Guide, a publication of WIPO.

In these Notes, "Article", "Rule", and "Section" refer to the provisions of the PCT, the PCT Regulations and the PCT Administrative Instructions respectively.

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

The applicant has, after having received the international search report, one opportunity to amend the claims of the international application. It should however be emphasized that, since all parts of the international application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 19 except where, e.g. the applicant wants the latter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only.

What parts of the international application may be amended?

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the international application may be amended under Article 28 or, where applicable, Article 41.

When?

Within 2 months from the date of transmittal of the international search report or 16 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 46.1).

Where not to file the amendments?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 46.2).

Where a demand for international preliminary examination has been/is filed, see below.

How?

Either by cancelling one or more entire claims, by adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Administrative Instructions, Section 205(b)).

The amendments must be made in the language in which the international application is to be published.

What documents must/may accompany the amendments?

Letter (Section 205(b)):

The amendments must be submitted with a letter.

The letter will not be published with the international application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below, under "Statement under Article 19(1)").

The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the international application is English, the letter must be in English; if the language of the international application is French, the letter must be in French.

The letter must indicate the differences between the claims as filed and the claims as amended. It must, in particular, indicate, in connection with each claim appearing in the international application (it being understood that identical indications concerning several claims may be grouped), whether

- (i) the claim is unchanged;
- (ii) the claim is cancelled;
- (iii) the claim is new;
- (iv) the claim replaces one or more claims as filed;
- (v) the claim is the result of the division of a claim as filed.

The following examples illustrate the manner in which amendments must be explained in the accompanying letter:

1. [Where originally there were 48 claims and after amendment of some claims there are 51]:
"Claims 1 to 29, 31, 32, 34, 35, 37 to 48 replaced by amended claims bearing the same numbers; claims 30, 33 and 36 unchanged; new claims 49 to 51 added."
2. [Where originally there were 15 claims and after amendment of all claims there are 11]:
"Claims 1 to 15 replaced by amended claims 1 to 11."
3. [Where originally there were 14 claims and the amendments consist in cancelling some claims and in adding new claims]:
"Claims 1 to 6 and 14 unchanged; claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added." or
"Claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added; all other claims unchanged."
4. [Where various kinds of amendments are made]:
"Claims 1-10 unchanged; claims 11 to 13, 18 and 19 cancelled; claims 14, 15 and 16 replaced by amended claim 14; claim 17 subdivided into amended claims 15, 16 and 17; new claims 20 and 21 added."

"Statement under article 19(1)" (Rule 48.4)

The amendments may be accompanied by a statement explaining the amendments and indicating any impact that such amendments might have on the description and the drawings (which cannot be amended under Article 19(1)).

The statement will be published with the international application and the amended claims.

It must be in the language in which the international application is to be published.

It must be brief, not exceeding 500 words if in English or if translated into English.

It should not be confused with and does not replace the letter indicating the differences between the claims as filed and as amended. It must be filed on a separate sheet and must be identified as such by a heading, preferably by using the words "Statement under Article 19(1)."

It may not contain any disparaging comments on the international search report or the relevance of citations contained in that report. Reference to citations, relevant to a given claim, contained in the international search report may be made only in connection with an amendment of that claim.

Consequence if a demand for international preliminary examination has already been filed

If, at the time of filing any amendments under Article 19, a demand for international preliminary examination has already been submitted, the applicant must preferably, at the same time of filing the amendments with the International Bureau, also file a copy of such amendments with the International Preliminary Examining Authority (see Rule 62.2(a), first sentence).

Consequence with regard to translation of the international application for entry into the national phase

The applicant's attention is drawn to the fact that, where upon entry into the national phase, a translation of the claims as amended under Article 19 may have to be furnished to the designated/elected Offices, instead of, or in addition to, the translation of the claims as filed.

For further details on the requirements of each designated/elected Office, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 4-31627A/NFI 9963	FOR FURTHER ACTION see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/EP 02/ 01420	International filing date (day/month/year) 11/02/2002	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 12/02/2001
Applicant NOVARTIS AG		

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 6 sheets.



It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

- a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.



the international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

- b. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of the sequence listing:



contained in the international application in written form.



filed together with the international application in computer readable form.



furnished subsequently to this Authority in written form.



furnished subsequently to this Authority in computer readable form.



the statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.



the statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished

2. ☒ Certain claims were found unsearchable (See Box I).

3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box II).

4. With regard to the title,

the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,

the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. The figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No.

as suggested by the applicant.



because the applicant failed to suggest a figure.



because this figure better characterizes the invention.



None of the figures.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 02/01420

19

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12N15/13 C07K16/28 C12N15/79 C12N5/10 A61K39/395
A61P37/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ, EPO-Internal, SEQUENCE SEARCH

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	G. AVERSA ET AL.: "Use of monoclonal antibodies to study in vivo and in vitro activated lymphocytes." TRANSPLANTATION PROCEEDINGS, vol. 21, no. 1 part 1, February 1989 (1989-02), pages 349-350, XP008017039 New York, NY, USA the whole document --- -/--	21



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 May 2003

Date of mailing of the international search report

06/06/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Nooij, F

2

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	G. AVERSA ET AL.: "A monoclonal antibody (A6) recognizing a unique epitope restricted to CD45RO and -RB isoforms of the leukocyte common antigen family identifies functional T cell subsets." CELLULAR IMMUNOLOGY, vol. 158, no. 2, 15 October 1994 (1994-10-15), pages 314-328, XP002228858 cited in the application the whole document	1-13
Y	---	14-20, 22-27
Y	WO 98 11918 A (RESEARCH CORPORATION TECHNOLOGIES, INC.) 26 March 1998 (1998-03-26) claims example 2 page 6, line 14 - line 17	17-20, 22-27
A	---	3,5,6
Y	F. KOLBINGER ET AL.: "Humanization of a mouse anti-human IgE antibody: a potential therapeutic for IgE-mediated allergies." PROTEIN ENGINEERING, vol. 6, no. 8, November 1993 (1993-11), pages 971-980, XP000983997 Oxford, GB cited in the application abstract material and methods	14-16
A	-----	3,7,8, 12,13

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 21-27 (partially)

Present claims 21-27 relate to a compound defined by reference to a desirable characteristic or property, namely that the compound has binding properties. The claims cover all compounds having this characteristic or property, whereas the application provides support within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT for only a very limited number of such compounds. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible. Independent of the above reasoning, the claims also lack clarity (Article 6 PCT). An attempt is made to define the compound by reference to a result to be achieved. Again, this lack of clarity in the present case is such as to render a meaningful search over the whole of the claimed scope impossible. Consequently, the search has been carried out for those parts of the claims which appear to be clear, supported and disclosed, namely those parts relating to antibodies having a binding specificity for both CD45RO and CD45RB, as described in the examples of underlying application.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP 02/01420

22

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 18 and 20 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☒ Claims Nos.: 21-27 (partially)
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 02/01420

23

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9811918	A	26-03-1998	US 6106834 A	22-08-2000
			EP 0939652 A1	08-09-1999
			JP 2001501607 T	06-02-2001
			WO 9811918 A1	26-03-1998
			US 2002168362 A1	14-11-2002
			US 6379668 B1	30-04-2002

The demand must be filed directly with the competent International Preliminary Examining Authority or, if two or more Authorities are competent, with the one chosen by the applicant. The full name or two-letter code of that Authority may be indicated by the applicant on the line below:

IPEA/

PCT

CHAPTER II

DEMAND

under Article 31 of the Patent Cooperation Treaty:
The undersigned requests that the international application specified below be the subject of international preliminary examination according to the Patent Cooperation Treaty and hereby elects all eligible States (except where otherwise indicated).

For International Preliminary Examining Authority use only	
Identification of IPEA	Date of receipt of DEMAND
Box No. I IDENTIFICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION	
Applicant's or agent's file reference 4-31627A/NFI 9963	
International application No. PCT/EP 02/01420	International filing date (day/month/year) 11 February 2002 (11.02.02)
(Earliest) Priority date (day/month/year) 12 February 2001 (12.02.01)	
Title of invention THERAPEUTIC BINDING MOLECULES	
Box No. II APPLICANT(S)	
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.) Novartis AG Lichtstrasse 35 4056 Basel CH	Telephone No. +4161 324 11 11
	Facsimile No. +4161 322 75 32
	Teleprinter No.
	Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality: CH	State (that is, country) of residence: CH
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.) Novartis-Erfindungen Verwaltungsgesellschaft m.b.H. Brunner Strasse 59 1230 Vienna AT	
State (that is, country) of nationality: AT	State (that is, country) of residence: AT
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.) AVERSA, Gregorio Trauttmansdorffgasse 11/7 1130 Vienna AT	
State (that is, country) of nationality: IT	State (that is, country) of residence: AT
☒ Further applicants are indicated on a continuation sheet.	

Continuation of Box No. II APPLICANT(S) <i>If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the demand.</i>	
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)</i> KOLBINGER, Frank Thuner Ring 4 79395 Neuenburg DE	
State <i>(that is, country)</i> of nationality: DE	State <i>(that is, country)</i> of residence: DE
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)</i> CARBALLIDO HERRERA, José M. Woebergasse 27 1235 Vienna AT	
State <i>(that is, country)</i> of nationality: ES	State <i>(that is, country)</i> of residence: AT
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)</i> ASZÓDI, András Bujattigasse 15B/19 1140 Vienna AT	
State <i>(that is, country)</i> of nationality: HU	State <i>(that is, country)</i> of residence: AT
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)</i> SALDANHA, José W. 21 Fillebrook Avenue Enfield, London EN1 3BD GB	
State <i>(that is, country)</i> of nationality: GB	State <i>(that is, country)</i> of residence: GB
☒ Further applicants are indicated on another continuation sheet.	

Sheet No. 3.

International application No.
PCT/EP 02/01420

Continuation of Box No. II APPLICANT(S)

If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the demand.

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

HALL, Bruce M.
14 Vernon Street
Strathfield, NSW 2135
AU

State (that is, country) of nationality:
AU

State (that is, country) of residence:
AU

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

☐ Further applicants are indicated on another continuation sheet.

Sheet No. 4.

International application No.
PCT/EP 02/01420**Box No. III AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE**The following person is ☒ agent ☐ common representativeand ☐ has been appointed earlier and represents the applicant(s) also for international preliminary examination.☐ is hereby appointed and any earlier appointment of (an) agent(s)/common representative is hereby revoked.☒ is hereby appointed, specifically for the procedure before the International Preliminary Examining Authority, in addition to the agent(s)/common representative appointed earlier.Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*GROS, Florent
Novartis AG
Corporate Intellectual Property
Patent & Trademark Department
4002 Basel
CH

Telephone No.

+4161 324 11 11

Facsimile No.

+4161 322 75 32

Teleprinter No.

Agent's registration No. with the Office

☐ Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.**Box No. IV BASIS FOR INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION****Statement concerning amendments:***

1. The applicant wishes the international preliminary examination to start on the basis of:

☒ the international application as originally filedthe description ☐ as originally filed☐ as amended under Article 34the claims ☐ as originally filed☐ as amended under Article 19 (together with any accompanying statement)☐ as amended under Article 34the drawings ☐ as originally filed☐ as amended under Article 342. ☐ The applicant wishes any amendment to the claims under Article 19 to be considered as reversed.3. ☐ The applicant wishes the start of the international preliminary examination to be postponed until the expiration of 20 months from the priority date unless the International Preliminary Examining Authority receives a copy of any amendments made under Article 19 or a notice from the applicant that he does not wish to make such amendments (Rule 69.1(d)). *(This check-box may be marked only where the time limit under Article 19 has not yet expired.)*

* Where no check-box is marked, international preliminary examination will start on the basis of the international application as originally filed or, where a copy of amendments to the claims under Article 19 and/or amendments of the international application under Article 34 are received by the International Preliminary Examining Authority before it has begun to draw up a written opinion or the international preliminary examination report, as so amended.

Language for the purposes of international preliminary examination: English.....

☒ which is the language in which the international application was filed.☐ which is the language of a translation furnished for the purposes of international search.☒ which is the language of publication of the international application.☐ which is the language of the translation (to be) furnished for the purposes of international preliminary examination.**Box No. V ELECTION OF STATES**The applicant hereby elects all eligible States *(that is, all States which have been designated and which are bound by Chapter II of the PCT)*

excluding the following States which the applicant wishes not to elect:

Sheet No. .5.

International application No.
PCT/EP 02/01420**Box No. VI CHECK LIST**

The demand is accompanied by the following elements, in the language referred to in Box No. IV, for the purposes of international preliminary examination:

- | | | |
|--|---|--------|
| 1. translation of international application | : | sheets |
| 2. amendments under Article 34 | : | sheets |
| 3. copy (or, where required, translation) of amendments under Article 19 | : | sheets |
| 4. copy (or, where required, translation) of statement under Article 19 | : | sheets |
| 5. letter | : | sheets |
| 6. other (<i>specify</i>) | : | sheets |

For International Preliminary
Examining Authority use only

- | | |
|--------------------------|--------------------------|
| received | not received |
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |

The demand is also accompanied by the item(s) marked below:

- | | |
|--|--|
| 1. ☒ fee calculation sheet | 5. ☐ statement explaining lack of signature |
| 2. ☐ original separate power of attorney | 6. ☐ sequence listing in computer readable form |
| 3. ☐ original general power of attorney | 7. ☒ other (<i>specify</i>): copy of general sub-authorisation |
| 4. ☐ copy of general power of attorney; reference number, if any: | copy of Form PCT/IB/306 |

Box No. VII SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the demand).

In the name of the applicants
The representative


20.08.2002

GROS, Florent AV 36671 + 37586

For International Preliminary Examining Authority use only

1. Date of actual receipt of DEMAND:

2. Adjusted date of receipt of demand due to CORRECTIONS under Rule 60.1(b):

3. ☐ The date of receipt of the demand is AFTER the expiration of 19 months from the priority date and item 4 or 5, below, does not apply.☐ The applicant has been informed accordingly.4. ☐ The date of receipt of the demand is WITHIN the period of 19 months from the priority date as extended by virtue of Rule 80.5.5. ☐ Although the date of receipt of the demand is after the expiration of 19 months from the priority date, the delay in arrival is EXCUSED pursuant to Rule 82.

For International Bureau use only

Demand received from IPEA on:

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
19 September 2002 (19.09.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/072832 A2

(51) International Patent Classification⁷: C12N 15/13,
C07K 16/28, C12N 15/79, 15/10, A61K 39/395, A61P
37/00

(21) International Application Number: PCT/EP02/01420 ✓

(22) International Filing Date: 11 February 2002 (11.02.2002) ✓

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: ✓ 0103389.3 ✓ 12 February 2001 (12.02.2001) GB

(71) Applicant (for all designated States except AT, US): NO-
VARTIS AG [CH/CH]; Lichtstrasse 35, CH-4055 Basel
(CH). ✓

(71) Applicant (for AT only): NOVARTIS-ERFINDUNGEN
VERWALTUNGSGESELLSCHAFT M.B.H. [AT/AT];
Brunner Strasse 59, A-1230 Vienna (AT).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): AVERSA, Gregorio
[IT/AT]; trautmansdorfgasse 11/7, A-1130 Vienna (AT).
KOLBINGER, Frank [DE/DE]; Thuner Ring 4, 79395
Neuenburg (DE). CARBALLIDO HERRERA, José, M.
[ES/AT]; Woebergasse 27, A-1235 Vienna (AT). ASZÓDI,

András [HU/AT]; Bujattigasse 15B/19, A-1140 Vienna
(AT). SALDANHA, José, W. [GB/GB]; 21 Hillebrook
Avenue, Enfield, London EN1 3BD (GB). HALL, Bruce,
M. [AU/AU]; 14 Vernon Street, Strathfield, NSW 2135
(AU).

(74) Agent: BECKER, Konrad; Novartis AG, Corporate
Intellectual Property, Patent & Trademark Department,
CH-4002 Basel (CH).

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU,
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LT, LU, LV, MA, MD, MK, MN, MX, NO, NZ, OM, PH,
PL, PT, RO, RU, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TN, TR, TT, UA,
US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Designated States (regional): Eurasian patent (AM, AZ,
BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE,
CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, SE, TR).

Published:

— without international search report and to be republished
upon receipt of that report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 02/072832 A2

(54) Title: THERAPEUTIC BINDING MOLECULES

(57) Abstract: A molecule comprising at least one antigen binding site, comprising in sequence the hypervariable regions CDR1, CDR2 and CDR3, said CDR1 having the amino acid sequence Asn-Tyr-Ile-Ile-His (NYTH), said CDR2 having the amino acid sequence Tyr-Phe-Asn-Pro-Tyr-Asn-His-Gly-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-Lys-Gly (YFNPNYHGTGYNEKFKG) and said CDR3 having the amino acid sequence Ser-Gly-Pro-Tyr-Ala-Trp-Phe-Asp-Thr (SGPYAWFDT); e.g. further comprising in sequence the hypervariable regions CDR1', CDR2' and CDR3', CDR1' having the amino acid sequence Arg-Ala-Ser-Gln-Asn-Ile-Gly-Thr-Ser-Ile-Gln 8RASQNIQTISIQ), CDR2', having the amino acid sequence Ser-Ser-Ser-Glu-Ser-Ile-Ser (SSSESIS) and CDR3' having the amino acid sequence Gln-Gln-Ser-Asn-Thr-Trp-Pro-Phe-Thr (QQSNTWPIPT), e.g. a chimeric or humanised antibody, useful as a pharmaceutical.

(Emblema)

(Logotipo) ; **Error! Marcador no definido.**

INVERSIONISTA EN LA GENTE

LA OFICINA DE PATENTES

5

La Oficina de Patentes

Concept House

Cardiff Road

10

Newport

Gales del Sur

NP10 8QQ

Yo, el suscrito, siendo un funcionario debidamente
autorizado de acuerdo con la Sección 74(1) y (4) de la Ley de
15 Desregulación y Contratación Externa de 1994, para firmar y
expedir certificados a nombre del Contralor General, mediante
la presente certifico que el anexo es una copia fiel de los
documentos tal como se presentaron originalmente en relación
con la Solicitud de Patente identificada en los mismos.

20

De acuerdo con las Reglas de Patentes (Re-registro
de Sociedades) de 1982, si una sociedad nombrada en este
certificado y en cualesquiera documentos acompañantes, se ha
re-registrado, de acuerdo con la Ley de Sociedades de 1980,
25 con el mismo nombre que aquél con el que se registró

inmediatamente antes del re-registro, salvo por la sustitución como, o la inclusión como, la última parte del nombre con las palabras "sociedad pública limitada" o sus equivalentes en Galo, las referencias al nombre de la sociedad en este
5 certificado y en cualesquiera documentos acompañantes, se tratarán como referencias al nombre con el cual así se re-registró.

De acuerdo con las reglas, las palabras "sociedad
10 pública limitada" pueden ser reemplazadas por s.p.l., spl, S.P.L., ó SPL.

El re-registro según la Ley de Sociedades no constituye una nueva entidad legal, sino que meramente sujeta
15 a la sociedad a ciertas reglas adicionales de la ley de sociedades.

Firma: (Firmado)

Fecha: 31 de octubre de 2001

20

(Aparece un sello móvil de la Oficina de Patentes).

1/77

13FEB01 E605385-1 D00524

P01/7700 0.00-0103389.3

Ley de Patentes de 1977

5 (Regla 16)

(Aparece un sello ovalado impreso con la siguiente leyenda:

LA OFICINA DE PATENTES

12 DE FEBRERO DE 2001

10 RECIBIDO PERSONALMENTE).

LA OFICINA DE PATENTES

La Oficina de Patentes

15 Cardiff Road
Newport
Gwent NP10 8QQ

SOLICITUD PARA LA CONCESION DE UNA PATENTE

20 (Ver las notas al reverso de esta forma. También puede
obtener un folleto de explicaciones en la Oficina de Patentes,
para ayudarle a llenar esta forma).

1. Su referencia: **4-31627P1/NFI 9963**
25

2. Número de Solicitud de Patente:

(La Oficina de Patentes llenará esta parte)

0103389.3

12 FEB 2001

5 3. Nombre completo, domicilio, y código postal de cada
solicitante *(subraye todos los apellidos)*:

NOVARTIS AG

SCHWARZWALDALLEE 215

4058 BASILEA

10

SUIZA

Número ADP de Patentes *(si lo conoce)*:

7125437022

Si el solicitante es un cuerpo corporativo, dé el país/estado
de su incorporación:

15

SUIZA

4. Título de la invención:

Compuestos Orgánicos

20 5. Nombre de su agente *(si tiene alguno)*:

B. A. YORKE & CO.

AGENTES DE PATENTES AUTORIZADOS

"Dirección para notificaciones" en el Reino Unido, a donde se
25 debe enviar toda la correspondencia *(incluyendo el*

COOMB HOUSE, 7 ST. JOHN'S ROAD

ISLEWORTH

MIDDLESEX TW7 6NH

5 Número ADP de Patentes (si lo conoce):

1800001

6. Si está declarando prioridad a partir de una o más solicitudes de patente anteriores, dé el país y la fecha de presentación de cada una de estas solicitudes anteriores, y (si lo conoce) cada número de solicitud:

País: - - -

Número de solicitud de prioridad (si lo sabe): - - -

15 Fecha de presentación (día/mes/año): - - -

7. Si esta solicitud está dividida o se deriva de otra manera de una solicitud anterior del Reino Unido, dé el número y la fecha de presentación de la solicitud anterior:

Número de solicitud anterior: - - -

Fecha de presentación (día/mes/año): - - -

8. Es una declaración de invención y del derecho de
25 otorgar una patente requerida en apoyo de esta

- Ver la nota (d)): **Sí**

10

9. Anote el número de páginas para cualquiera de los siguientes artículos que esté presentando con esta forma. No cuente las copias del mismo documento.

15

Páginas de continuación de esta forma --

Descripción	20
-------------	----

Reivindicaciones 2

Resumen **1**

Dibujo(s)	1
-----------	---

20

10. Si también está presentando cualquiera de los siguientes, informe cuántas en cada uno de los puntos.

Documentos de prioridad: --

25

Traducción de documentos de prioridad: --

Declaración de invención y derecho a la concesión de una
patente (*Forma de Patentes 7/77*): --

Solicitud de examen preliminar y búsqueda (*Forma de Patentes
9/77*): Una

5 Solicitud de examen sustantivo (*Forma de Patentes 10/77*): --

Cualesquiera otros documentos (*por favor especifique*):

11. Solicitamos la concesión de una patente con base en
esta solicitud.

10 Firma: B. A. Yorke & Co.
(Firmado)
Fecha: 12 de febrero de 2001

12. Nombre y número telefónico diurno de la persona para
15 hacer contacto en el Reino Unido:
SRA. E. CHEETHAM
020 8560 5847

Advertencia

20 Después de que se haya presentado una solicitud de
patente, el Contralor de la Oficina de Patentes considerará si
se debe prohibir o restringir la publicación o comunicación de
la invención, de acuerdo con la Sección 22 de la Ley de
Patentes de 1977. Se le informará si es necesario prohibir o
25 restringir su invención de esta manera. Además, si usted vive

en el Reino Unido, la Sección 23 de la Ley de Patentes de 1977 le impide solicitar una patente en el extranjero sin obtener primero un permiso por escrito de la Oficina de Patentes, a menos que se haya presentado una solicitud cuando menos 6
5 semanas antes en el Reino Unido para una patente para la misma invención, y no se hayan dado instrucciones que prohíban la publicación o la comunicación, o se hayan revocado dichas instrucciones.

Notas

- 10 a) Si necesita ayuda para llenar esta forma, o tiene alguna pregunta, por favor haga contacto con la Oficina de Patentes al 0645 500505.
- b) Escriba sus respuestas en letras mayúsculas, utilizando tinta negra, o puede mecanografiarlas.
- 15 c) Si no hay suficiente espacio para todos los detalles pertinentes en cualquier parte de esta forma, por favor continúe en una hoja de papel separada, y escriba "ver página de continuación" en las partes pertinentes. Cualquier página de continuación se
20 debe adjuntar a esta forma.
- d) Una vez que haya llenado la forma, debe recordar firmarla y fecharla.
- e) Para los detalles de los derechos y de las maneras de pagar, por favor haga contacto con la Oficina de
25 Patentes.

REIVINDICACIONES

1. Una molécula que comprende cuando menos un sitio de enlace de antígeno, que comprende en la secuencia las regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3, teniendo la CDR1 la secuencia de aminoácidos Asn-Tyr-Ile-Ile-His (NYIIH),
5 teniendo la CDR2 la secuencia de aminoácidos Tyr-Phe-Asn-Pro-Tyr-Asn-His-Gly-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-Lys-Gly (YFNPYNHGTTYNEKFKG), y teniendo la CDR3 la secuencia de aminoácidos Ser-Gly-Pro-Tyr-Ala-Trp-Phe-Asp-Thr (SGPYAWFDT);
10 y sus equivalentes

2. Una molécula de enlace de acuerdo con la reivindicación 1, la cual comprende:

a) un primer dominio que comprende en la secuencia las regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3, teniendo la CDR1 la secuencia de aminoácidos Asn-Tyr-Ile-Ile-His (NYIIH), teniendo la CDR2 la secuencia de aminoácidos Tyr-Phe-Asn-Pro-Tyr-Asn-His-Gly-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-Lys-Gly (YFNPYNHGT KYNEKFKG), y teniendo la CDR3 la secuencia de aminoácidos Ser-Gly-Pro-Tyr-Ala-Trp-Phe-Asp-Thr
15 (SGPYAWFDT); y
20

b) un segundo dominio que comprende en la secuencia las regiones hipervariables CDR1', CDR2', y CDR3', teniendo la CDR1' la secuencia de aminoácidos Arg-Ala-Ser-Gln-Asn-Ile-Gly-Thr-Ser-Ile-Gln (RASQNIGTSIQ), teniendo la CDR2' la secuencia de aminoácidos Ser-Ser-Ser-Glu-Ser-Ile-Ser
25

(SSSESIS), y teniendo la CDR3' la secuencia de aminoácidos Gln-Gln-Ser-Asn-Thr-Trp-Pro-Phe-Thr (QQSNTWPFT); y sus equivalentes directos.

3. Un polinucleótido que comprende
5 polinucleótidos que codifican la secuencia de aminoácido de CDR1, CDR2, y CDR3 y/o polinucleótidos que comprenden la secuencia de aminoácido de CDR1', CDR2' y CDR3';

4. Un polinucleótido que comprende polinucleótidos de la SEQ.ID.NO:5, y/o polinucleótidos de la SEQ.ID.NO:6.

10 5. El uso de una molécula de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, como un producto farmacéutico.

6. Una composición farmacéutica que comprende una molécula de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1
15 ó 2, en asociación con cuando menos un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

7. Un método de tratamiento y/o profilaxis de enfermedades asociadas con enfermedades autoinmunes, rechazo de trasplante, psoriasis, enfermedad inflamatoria del
20 intestino, y alergias, el cual comprende administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento y/o profilaxis, una cantidad efectiva de una molécula o de un anticuerpo humanizado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2.

25 SC/9-Feb-01

RESUMEN

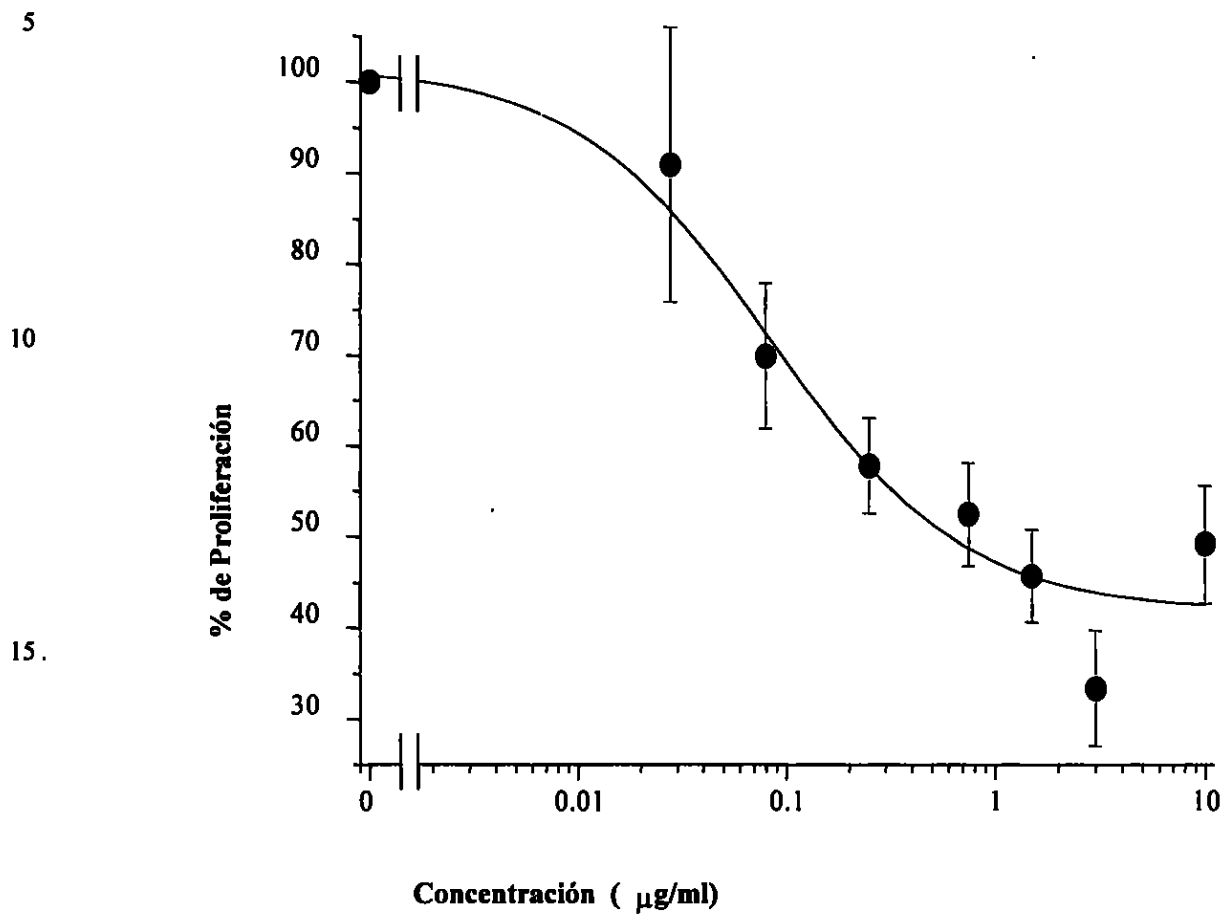
Una molécula que comprende cuando menos un sitio de
5 enlace de antígeno, la cual comprende, en la secuencia, las
regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3, teniendo la CDR1
la secuencia de aminoácidos Asn-Tyr-Ile-Ile-His (NYIH),
teniendo la CDR2 la secuencia de aminoácidos Tyr-Phe-Asn-Pro-
Tyr-Asn-His-Gly-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-Lys-Gly
10 (YFNPYNHGTTYNEKFKG) y teniendo la CDR3 la secuencia de
aminoácidos Ser-Gly-Pro-Tyr-Ala-Trp-Phe-Asp-Thr (SGPYAWFDT);
por ejemplo, que comprende además en la secuencia, las
regiones hipervariables CDR1', CDR2', y CDR3', teniendo la
CDR1' la secuencia de aminoácidos Arg-Ala-Ser-Gln-Asn-Ile-
15 Gly-Thr-Ser-Ile-Gln (8RASQNIGTSIQ), teniendo la CDR' la
secuencia de aminoácidos Ser-Ser-Ser-Glu-Ser-Ile-Ser
(SSSESIS), y teniendo la CDR3' la secuencia de aminoácidos
Gln-Gln-Ser-Asn-Thr-Trp-Pro-Phe-Thr (QQSNTWPFT), y sus
equivalentes directos, útil como un producto farmacéutico.

20

25

* * * * *

Figura 1/



Yo, ANA ELENA FERRER RAMÍREZ, Perita Traductora Autorizada por el Tribunal Superior de Justicia del D.F., y miembro de la Organización Mexicana de Traductores, A.C., con domicilio en Av. Clavería 224-205, Col. Clavería, México, D.F. 02080, Tels. 5396 2669 y 5396 5201, certifico que el documento precedente es, a mi leal saber y entender, una traducción fiel y exacta del documento original en idioma inglés que tuve a la vista.

México, D. F., 5 de agosto de 2003

ANA ELENA FERRER R. Perita Traductora Autorizada por el Tribunal Superior de Justicia del D.F.

Ana Elena Ferrer Ramírez

Ana Elena Ferrer Ramírez

MOLECULAS DE ENLACE TERAPEUTICAS

Campo de la Invención

La presente invención se refiere a compuestos orgánicos, tales como a moléculas de enlace contra las isoformas del antígeno CD45, tales como, por ejemplo, anticuerpos monoclonales (mAbs).

Antecedentes de la Invención

Un planteamiento en el tratamiento de una variedad de enfermedades, es lograr la eliminación o la inactivación de los leucocitos patogénicos, y el potencial de inducción de tolerancia para inactivar las respuestas inmunes patológicas.

Se piensa que el rechazo de órganos, células y tejidos, y las diferentes enfermedades autoinmunes, son primordialmente el resultado de la respuesta inmune mediada por células T, desencadenada por las células T auxiliares, que son capaces de reconocer antígenos específicos que son capturados, procesados y presentados ante las células T auxiliares por las células presentadoras de antígeno (APC), tales como macrófagos y células dendríticas, en la forma de un complejo de antígeno-MHC, es decir, la célula T auxiliar, cuando está reconociendo antígenos específicos, se estimula para producir citocinas, tales como IL-2, o para expresar o aumentar algunos receptores de citocina y otras moléculas de

activación, y para proliferarse. Algunas de estas células T auxiliares activadas pueden actuar directa o indirectamente, es decir, asistiendo a las células T o células B citotóxicas efectoras, para destruir las células o tejidos que expresen el antígeno seleccionado. Después de la terminación de la respuesta inmune, algunas de las células maduras clonalmente seleccionadas permanecen como células T auxiliares de memoria y citotóxicas de memoria, que circulan en el cuerpo y reconocen rápidamente el antígeno si aparece de nuevo. Si el antígeno que desencadena esta respuesta es un antígeno ambiental inocuo, el resultado es alergia. Si el antígeno no es un antígeno extraño, sino un auto-antígeno, puede dar como resultado una enfermedad autoinmune; si el antígeno es un antígeno a partir de un órgano trasplantado, el resultado puede ser rechazo del injerto.

El sistema inmune se ha desarrollado para reconocer lo propio de lo no propio. Esta propiedad hace posible que un organismo sobreviva en un medio ambiente expuesto a las agresiones diarias de los patógenos. Esta especificidad para lo no propio y esta tolerancia hacia lo propio se presentan durante el desarrollo del repertorio de células T en el timo a través de los procesos de selección positiva y negativa, que también comprenden el reconocimiento y la eliminación de las células T auto-reactivas. Este tipo de tolerancia es referida como tolerancia central. Sin embargo, algunas de

estas células auto-reactivas escapan a este mecanismo selectivo, y presentan un riesgo potencial para el desarrollo de enfermedades autoinmunes. Para controlar las células T auto-reactivas que hayan escapado hacia la periferia, el sistema inmune tiene mecanismos reguladores periféricos que proporcionan protección contra la autoinmunidad. Estos mecanismos son una base para la tolerancia periférica.

Los antígenos de superficie celular reconocidos por los anticuerpos monoclonales específicos, son en general designados por un número CD (Racimo de Diferenciación) asignado por los talleres sucesivos de Tipificación Internacional de Leucocitos, y el término CD45 aplicado en la presente, se refiere al antígeno común de leucocito de superficie celular CD45; y un anticuerpo monoclonal para ese antígeno se designa en la presente como "anti-CD45".

El antígeno común de leucocitos (LCA) ó CD45, es el principal componente de la globulina anti-linfocitos (ALG). El CD45 pertenece a la familia de las fosfatasas de tirosina transmembrana, y es un regulador tanto positivo como negativo de la activación celular, dependiendo de la interacción del receptor. La actividad de fosfatasa del CD45 parece ser requerida para la activación de las cinasas de la familia Src asociadas con el receptor de antígeno de los linfocitos B y T (Trowbridge IS. y colaboradores, Annu. Rev. Immunol. 1994; 12:85-116). Por consiguiente, en la activación de las células

T, el CD45 es esencial para la señal 1, y las células deficientes en CD45 tienen profundos defectos en los eventos de activación mediados por TCR.

El antígeno CD45 existe en diferentes isoformas que comprenden una familia de glicoproteínas transmembrana. Las distintas isoformas de CD45 difieren en su estructura del dominio extracelular, que se presenta del empalme alternativo de tres exones variables que codifican para una parte del dominio extracelular del CD45 (Streuli MF. y colaboradores, J. Exp. Med. 1987; 166:1548-1566). Las diferentes isoformas del CD45 tienen diferentes dominios extracelulares, pero tienen los mismos segmentos transmembrana y citoplásmicos que tienen dos dominios de fosfatasa homólogos altamente conservados de aproximadamente 300 residuos. Diferentes combinaciones de isoformas se expresan diferencialmente sobre las subpoblaciones de linfocitos T y B (Thomas ML. y colaboradores, Immunol. Today 1988; 9:320-325). Algunos anticuerpos monoclonales reconocen un epítipo común a todas las diferentes isoformas, mientras que otros anticuerpos monoclonales tienen una especificidad restringida (CD45R) dependiendo de sobre cuáles de los exones alternativamente empalmados (A, B, ó C) reconozcan. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales que reconocen el producto del exón A, son designados en consecuencia como CD45RA; los que reconocen las diferentes isoformas que contienen el exón B,

han sido designados como CD45RB (Beverly PCL y colaboradores, Immunol. Supp. 1988; 1:3-5). Los anticuerpos, tales como UCHL1 se enlazan selectivamente con la isoforma CD45RO de 180 kDa (sin ninguno de los exones variables A, B, ó C), que
5 parece estar restringida a un subconjunto de células T activadas, células de memoria, y timocitos corticales, y no es detectada sobre las células B (Terry LA y colaboradores, Immunol. 1988; 64:331-336).

10 **Descripción de las Figuras**

La Figura 1 muestra que la inhibición de la MLR primaria por parte del "mAb candidato" depende de la dosis en el rango de 0.001 a 10 microgramos/mililitro. La "concentración" es la concentración del "mAb candidato".

15 La Figura 2 muestra el mapa del plásmido del vector de expresión HCMV-G1 HuAb-VHQ, que comprende la cadena pesada que tiene la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO:12 (3921-4274), en la secuencia de nucleótidos completa del vector de expresión SEQ ID NO:15.

20 La Figura 3 muestra el mapa del plásmido del vector de expresión HCMV-G1 HuAb-VHE, que comprende la cadena pesada que tiene la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO:11 (3921-4274) en la secuencia de nucleótidos completa del vector de expresión SEQ ID NO:16.

25 La Figura 4 muestra el mapa del plásmido del vector

de expresión HCMV-K HuAb-humV1, que comprende la cadena ligera que tiene la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO:14 (3964-4284), en la secuencia de nucleótidos completa del vector de expresión SEQ ID NO:17.

5 La Figura 5 muestra el mapa del plásmido del vector de expresión HCMV-K HuAb-humV2, que comprende la cadena ligera que tiene la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO:13 (3926-4246), en la secuencia de nucleótidos completa del vector de expresión SEQ ID NO:18.

10

Descripción de la Invención

Ahora hemos encontrado una molécula de enlace que comprende una secuencia de polipéptido que se enlaza con CD45RO y CD45RB, también designada posteriormente en la
15 presente como una "molécula de enlace de CD45RO/RB". Esta molécula de enlace, de acuerdo con la invención, puede inducir la inmunosupresión, inhibir las respuestas primarias de células T, e inducir la tolerancia a células T. Además, las moléculas de enlace de la invención inhiben las
20 respuestas de linfocitos mixtos primarias (MLR). Las células derivadas a partir de cultivos tratados con moléculas de enlace de CD45RO/RB de preferencia también tienen respuestas proliferativas deterioradas en las MLR secundarias, inclusive en ausencia de las moléculas de enlace de CD45RO/RB en las
25 MLR secundarias. Estas respuestas proliferativas deterioradas

en las MLR secundarias son una indicación de la capacidad de las moléculas de enlace de la invención para inducir tolerancia. Adicionalmente, la administración *in vivo* de la molécula de enlace CD45RO/RB a ratones con inmunodeficiencia combinada severa (SCID) que sufren xeno-GVHD en seguida de inyección con PBMC humanas, puede prolongar la supervivencia de los ratones, comparándose con los ratones de control tratados, inclusive cuando las células T humanas circulantes todavía puedan ser detectadas en los ratones tratados con molécula de enlace de CD45RO/RB.

"Molécula de enlace de CD45RO/RB" significa cualquier molécula capaz de enlazarse específicamente con las isoformas CD45RB y CD45RO del antígeno CD45, ya sea sola o asociada con otras moléculas. La reacción de enlace se puede demostrar mediante métodos convencionales (ensayo cualitativo), incluyendo, por ejemplo, cualquier clase de ensayo de enlace, tal como inmunofluorescencia directa o indirecta junto con microscopía de fluorescencia o análisis citofluorimétrico (FACS), ensayo inmunsorbente enlazado con enzima (ELISA), o radioinmunoensayo, en donde se puede visualizar el enlace de la molécula con las células que expresen una isoforma de CD45 particular. En adición, el enlace de la molécula puede dar como resultado la alteración de la función de las células que expresen estas isoformas. Por ejemplo, se puede determinar la inhibición de la

respuesta de linfocitos mixtos primaria o secundaria (MLR), tal como en un ensayo *in vitro* o en un bioensayo, para determinar la inhibición de la MLR primaria o secundaria en la presencia y en ausencia de una molécula de enlace de CD45RO/RB, y determinando las diferencias en la inhibición de la MLR primaria.

De una manera alternativa, también se pueden determinar los efectos moduladores funcionales *in vitro* midiendo la proliferación de PBMC o de células T o de células T CD4⁺, la producción de citocinas, el cambio en la expresión de las moléculas de superficie celular, por ejemplo en seguida de la activación celular en MLR, o en seguida del estímulo con un antígeno específico, tal como toxoide de tétanos u otros antígenos, o con estimuladores policlonales, tales como fitohemaglutinina (PHA), o anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28, o ésteres de forbol e ionóforos Ca²⁺. Los cultivos se establecen de una manera similar a la descrita para la MLR, excepto que, en lugar de las células alogénicas como estimuladoras, se utilizan estimuladores de antígeno soluble o policlonales, tales como los mencionados anteriormente. La proliferación de células T se mide de preferencia como se describió anteriormente, mediante la incorporación de ³H-timidina.

La producción de citocina se mide de preferencia mediante ELISA de emparedado, en donde se recubre un

anticuerpo de captura de citocina sobre la superficie de una placa de 96 pozos, se agregan los sobrenadantes de los cultivos, y se incuban durante 1 hora a temperatura ambiente, y luego se agrega un anticuerpo de detección específico para la citocina particular, siguiendo un segundo paso de anticuerpo conjugado con una enzima, tal como peroxidasa de rábano, seguida por el sustrato correspondiente, y se mide la absorbencia en un lector de placas. El cambio en las moléculas de superficie celular se puede medir de preferencia mediante inmunofluorescencia directa o indirecta, después de teñir las células blanco con anticuerpos específicos para una molécula de superficie celular particular. El anticuerpo se puede marcar directamente fluorocromo, o bien se puede utilizar un anticuerpo fluorescentemente marcado de un segundo paso específico para el primer anticuerpo, y se analizan las células con un citofluorímetro.

La molécula de enlace de la invención tiene una especificidad de enlace tanto para CD45RO como para CD45RB ("molécula de enlace de CD45RB/RO").

De preferencia, la molécula de enlace se enlaza con las isoformas CD45RO con una constante de disociación (K_d) $<15\text{nM}$, de preferencia con una $K_d <10\text{nM}$, más preferiblemente con una $K_d <5\text{nM}$. De preferencia, la molécula de enlace se enlaza con las isoformas de CD45RB con una $K_d <15\text{nM}$, de preferencia con una $K_d <10\text{nM}$, más preferiblemente con una

Kd<5nM.

En una modalidad preferida adicional, la molécula de enlace de la invención se enlaza con las isoformas CD45 que:

- 5 1) incluyan los epítomos A y B, pero no el epítomo C de la molécula CD45; y/o
- 2) incluyan al epítomo B pero no al epítomo A ni al C de la molécula CD45; y/o
- 3) no incluyan ninguno de los epítomos A, B, ó C
- 10 de la molécula CD45.

En todavía una modalidad preferida adicional, la molécula de enlace de la invención no se enlaza con las isoformas CD45 que incluyan:

- 1) todos los epítomos A, B, y C de la molécula
- 15 CD45; y/o
- 2) ambos epítomos B y C, pero no el epítomo A de la molécula CD45.

En las modalidades preferidas adicionales, la molécula de enlace de la invención además:

- 20 1) reconoce las células T de memoria y aloactivadas *in vivo*; y/o
- 2) se enlaza con su blanco sobre las células T humanas, tales como por ejemplo las células PEER; en donde este enlace de preferencia es con una Kd<15nM, más
- 25 preferiblemente con una Kd<10nM, y de una manera muy

preferible con una $K_d < 5 \text{ nM}$; y/o

3) inhibe la función de células T alorreactivas *in vitro*, de preferencia con una IC_{50} de aproximadamente 5 nM , más preferiblemente con una IC_{50} de aproximadamente 1 nM , de
5 una manera más preferible con una IC_{50} de aproximadamente 0.5 nM , o inclusive 0.1 nM ; y/o

4) induce la tolerancia de células T específica del aloantígeno *in vitro*; y/o

5) previene la enfermedad xenogénica letal del
10 injerto contra el huésped (GvHD) inducida en ratones SCID mediante inyección de PBMC humanas, cuando se administra en una cantidad efectiva.

En una modalidad preferida adicional, la molécula de enlace de la invención se enlaza con el mismo epítipo que
15 el anticuerpo monoclonal "A6", como es descrito por Aversa y colaboradores, Cellular Immunology 158, 314-328 (1994).

Debido a las propiedades de enlace anteriormente descritas y a las actividades biológicas, estas moléculas de enlace de la invención son particularmente útiles en
20 medicina, para terapia y/o profilaxis. Las enfermedades en donde las moléculas de enlace de la invención son particularmente útiles incluyen enfermedades autoinmunes, rechazo de trasplante, psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino, y alergias, como se estipulará adicionalmente más
25 adelante.

Hemos encontrado que una molécula que comprende un polipéptido de la SEQ ID NO:1 y un polipéptido de la SEQ ID NO:2 es una molécula de enlace de CD45RO/RB. También hemos encontrado las regiones hipervariables CDR1', CDR2', y CDR3' en una molécula de enlace de CD45RO/RB de la SEQ ID NO:1, 5 teniendo la CDR1' la secuencia de aminoácidos Arg-Ala-Ser-Gln-Asn-Ile-Gly-Thr-Ser-Ile-Gln (RASQNIGTSIQ), teniendo la CDR2' la secuencia de aminoácidos Ser-Ser-Ser-Glu-Ser-Ile-Ser (SSSESIS), y teniendo la CDR3' la secuencia de aminoácidos 10 Gln-Gln-Ser-Asn-Thr-Trp-Pro-Phe-Thr (QQSNTWPFT).

También hemos encontrado las regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3 en una molécula de enlace de CD45RO/RB de la SEQ ID NO:2, teniendo la CDR1 la secuencia de aminoácidos Asn-Tyr-Ile-Ile-His (NYIIH), teniendo la CDR2 15 la secuencia de aminoácidos Tyr-Phe-Asn-Pro-Tyr-Asn-His-Gly-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-Lys-Gly (YFNPYNHGTTYNEKFKG), y teniendo la CDR3 la secuencia de aminoácidos Ser-Gly-Pro-Tyr-Ala-Trp-Phe-Asp-Thr (SGPYAWFDT).

Las CDRs son tres regiones determinantes de 20 complementariedad específicas que también se denominan regiones hipervariables, las cuales determinan esencialmente las características de enlace de antígeno. Estas CDRs son parte de la región variable, por ejemplo de la SEQ ID NO:1 o de la SEQ ID NO:2, respectivamente, en donde estas CDRs se 25 alternan con regiones de estructura (FRs), por ejemplo las

regiones constantes. Una SEQ ID NO:1 es parte de una cadena ligera, por ejemplo de la SEQ ID NO:3, y una SEQ ID NO:2 es parte de una cadena pesada, por ejemplo de la SEQ ID NO:4, en un anticuerpo quimérico de acuerdo con la presente invención.

5 Las CDRs de una cadena pesada, junto con las CDRs de una cadena ligera asociada, constituyen esencialmente el sitio de enlace de antígeno de una molécula de la presente invención. Se sabe que la contribución hecha por una región variable de cadena ligera a la energía del enlace es pequeña,
10 comparándose con aquélla hecha por la región variable de cadena pesada asociada, y que las regiones variables de cadena pesada aisladas tienen una actividad de enlace de antígeno por sí mismas. Estas moléculas son comúnmente referidas como anticuerpos de un solo dominio.

15 En un aspecto, la presente invención proporciona una molécula que comprende cuando menos un sitio de enlace de antígeno, por ejemplo una molécula de enlace de CD45RO/RB, la cual comprende, en secuencia, las regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3, teniendo la CDR1 la secuencia de
20 aminoácidos Asn-Tyr-Ile-Ile-His (NYIIH), teniendo la CDR2 la secuencia de aminoácidos Tyr-Phe-Asn-Pro-Tyr-Asn-His-Gly-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-Lys-Gly (YFNPYNHGTTYNEKFKG), y teniendo la CDR3 la secuencia de aminoácidos Ser-Gly-Pro-Tyr-Ala-Trp-Phe-Asp-Thr (SGPYAWFDT); por ejemplo, y sus
25 equivalentes directos.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una molécula que comprende cuando menos un sitio de enlace de antígeno, por ejemplo una molécula de enlace de CD45RO/RB, la cual comprende:

5 a) un primer dominio que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3, teniendo la CDR1 la secuencia de aminoácidos Asn-Tyr-Ile-Ile-His (NYIIH), teniendo la CDR2 la secuencia de aminoácidos Tyr-Phe-Asn-Pro-Tyr-Asn-His-Gly-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-Lys-Gly
10 (YFNPYNHGTTYNEKFKG), y teniendo la CDR3 la secuencia de aminoácidos Ser-Gly-Pro-Tyr-Ala-Trp-Phe-Asp-Thr (SGPYAWFDT);
y

 b) un segundo dominio que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables CDR1', CDR2', y CDR3',
15 teniendo la CDR1' la secuencia de aminoácidos Arg-Ala-Ser-Gln-Asn-Ile-Gly-Thr-Ser-Ile-Gln (RASQNIGTSIQ), teniendo la CDR2' la secuencia de aminoácidos Ser-Ser-Ser-Glu-Ser-Ile-Ser (SSSESIS), y teniendo la CDR3' la secuencia de aminoácidos Gln-Gln-Ser-Asn-Thr-Trp-Pro-Phe-Thr (QQSNTWPFT).

20 por ejemplo, y sus equivalentes directos.

En una modalidad preferida, el primer dominio que comprende en secuencia, las regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3, es una cadena pesada de inmunoglobulina, y el segundo dominio que comprende, en secuencia, las regiones
25 hipervariables CDR1', CDR2', y CDR3', es una cadena ligera de

inmunoglobulina.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una molécula, por ejemplo una molécula de enlace de CD45RO/RB, la cual comprende un polipéptido de la SEQ ID NO:1 y/o un polipéptido de la SEQ ID NO:2, que comprende de preferencia, en un dominio, un polipéptido de la SEQ ID NO:1, y en otro dominio, un polipéptido de la SEQ ID NO:2, por ejemplo un anticuerpo monoclonal quimérico, y en otro aspecto, una molécula, por ejemplo una molécula de enlace de CD45RO/RB, que comprende un polipéptido de la SEQ ID NO:3 y/o un polipéptido de la SEQ ID NO:4, que comprende de preferencia, en un dominio, un polipéptido de la SEQ ID NO:3, y en otro dominio un polipéptido de la SEQ ID NO:4, por ejemplo un anticuerpo monoclonal quimérico.

Cuando el sitio de enlace de antígeno comprende tanto al primero como al segundo dominio, o un polipéptido de la SEQ ID NO:1 o de la SEQ ID NO:3, respectivamente, y un polipéptido de la SEQ ID NO:2 o de la SEQ ID NO:4, respectivamente, éstos se pueden localizar sobre el mismo polipéptido, o de preferencia cada dominio puede estar sobre una cadena diferente, por ejemplo siendo el primer dominio parte de una cadena pesada, por ejemplo una cadena pesada de inmunoglobulina, o un fragmento de la misma, y siendo el segundo dominio parte de una cadena ligera, por ejemplo una cadena ligera de inmunoglobulina o un fragmento de la misma.

Además hemos encontrado que una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención es una molécula de enlace de CD45RO/RB en un ambiente corporal de mamífero, por ejemplo de un ser humano. Una molécula de
5 enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención, por lo tanto, se puede diseñar como un anticuerpo monoclonal (mAb), en donde la actividad de enlace es determinada principalmente por las regiones CDR, como se describió anteriormente, por ejemplo estando estas regiones CDR
10 asociadas con otras moléculas sin especificidad de enlace, tales como regiones de estructura, por ejemplo constantes, que sean sustancialmente de origen humano.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una molécula de enlace de CD45RO/RB que no es el anticuerpo
15 monoclonal "A6", como es descrito por Aversa y colaboradores, Cellular Immunology 158, 314-328 (1994).

En otro aspecto, la presente invención proporciona una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención, que es un anticuerpo monoclonal
20 quimérico, humanizado, o completamente humano.

Los ejemplos de las moléculas de enlace de CD45RO/RB incluyen anticuerpos quiméricos o humanizados, por ejemplo derivados a partir de anticuerpos producidos por células B o hibridomas o cualquier fragmento de los mismos,
25 por ejemplo los fragmentos F(ab')₂ y Fab, así como los

anticuerpos de una sola cadena o de un solo dominio. Un anticuerpo de una sola cadena consiste en las regiones variables de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo, covalentemente enlazadas por un enlazador peptídico, que
5 consiste usualmente en 10 a 30 aminoácidos, de preferencia en 15 a 25 aminoácidos. Por consiguiente, esta estructura no incluye la parte constante de las cadenas pesada y ligera, y se cree que el separador de péptido pequeño debe ser menos antigénico que una parte constante entera. Un anticuerpo
10 quimérico significa un anticuerpo en donde las regiones constantes de las cadenas pesada y ligera, o ambas, son de origen humano, mientras que los dominios variables de tanto la cadena pesada como ligera, son de origen no humano (por ejemplo, de murino). Un anticuerpo humanizado significa un
15 anticuerpo en donde las regiones hipervariables (CDRs) son de un origen no humano (por ejemplo, de murino), mientras que toda o sustancialmente toda la otra parte, por ejemplo las regiones constantes y las partes altamente conservadas de las regiones variables, son de origen humano. Sin embargo, un
20 anticuerpo humanizado puede retener unos cuantos aminoácidos de la secuencia de murino en las partes de las regiones variables adyacentes a las regiones hipervariables.

Las regiones hipervariables, es decir, las CDRs de acuerdo con la presente invención, se pueden asociar con
25 cualquier clase de regiones de estructura, por ejemplo las

partes constantes de las cadenas ligera y pesada, de origen humano. Las regiones de estructura adecuadas se describen, por ejemplo, en "Sequences of proteins of immunological interest", Kabat, E.A. y colaboradores, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos, Servicio de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud. De preferencia, la parte constante de una cadena pesada humana puede ser del tipo IgG₁, incluyendo subtipos, de preferencia la parte constante de una cadena ligera humana puede ser del tipo κ ó λ , más preferiblemente del tipo κ . Una parte constante preferida de una cadena pesada es un polipéptido de la SEQ ID NO:4 (sin las partes de la secuencia CDR1', CDR2', y CDR3' que se especificaron anteriormente), y una parte constante preferida de una cadena ligera es un polipéptido de la SEQ ID NO:3 (sin las partes de la secuencia CDR1, CDR2, y CDR3, que se especificaron anteriormente).

También hemos encontrado un anticuerpo humanizado que comprende una región variable de cadena ligera de la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:7 o de la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:8, la cual comprende CDR1', CDR2', y CDR3' de acuerdo con la presente invención, y la región variable de cadena pesada de la SEQ ID NO:9 o de la SEQ ID NO:10, la cual comprende CDR1, CDR2, y CDR3 de acuerdo con la presente invención.

En otro aspecto, la presente invención proporciona

un anticuerpo humanizado que comprende un polipéptido de la SEQ ID NO:9 o de la SEQ ID NO:10, y un polipéptido de la SEQ ID NO:7 o de la SEQ ID NO:8.

En otro aspecto, la presente invención proporciona
5 un anticuerpo humanizado que comprende:

- un polipéptido de la SEQ ID NO:9 y un polipéptido de la SEQ ID NO:7,
- un polipéptido de la SEQ ID NO:9 y un polipéptido de la SEQ ID NO:8,
- 10 - un polipéptido de la SEQ ID NO:10 y un polipéptido de la SEQ ID NO:7, ó
- un polipéptido de la SEQ ID NO:10 y un polipéptido de la SEQ ID NO:8.

Un polipéptido de acuerdo con la presente
15 invención, por ejemplo de una secuencia especificada en la presente, por ejemplo de CDR1, CDR2, CDR3, CDR1', CDR2', CDR3', o de una SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, ó SEQ ID NO:10, incluye equivalentes directos de estas secuencias de
20 polipéptidos; por ejemplo incluyendo un derivado funcional de este polipéptido. Este derivado funcional puede incluir modificaciones covalentes de una secuencia especificada, y/o el derivado funcional puede incluir variantes de la secuencia de aminoácidos de una secuencia especificada.

25 "Polipéptido", si no se especifica de otra manera

en la presente, incluye cualquier péptido o proteína que comprenda aminoácidos unidos unos con otros mediante enlaces peptídicos, que tiene una secuencia de aminoácidos empezando en la extremidad N-terminal, y terminando en la extremidad C-terminal. De preferencia, el polipéptido de la presente invención es un anticuerpo monoclonal, más preferiblemente es un anticuerpo monoclonal quimérico (injertado con V) o humanizado (injertado con CDR). El anticuerpo monoclonal humanizado (injertado con CDR) puede o no incluir mutaciones adicionales introducidas en las secuencias de estructura (FR) del anticuerpo aceptor.

Un derivado funcional de un polipéptido, como se utiliza en la presente, incluye una molécula que tiene una actividad biológica cualitativa en común con un polipéptido de la presente invención, es decir, que tiene la capacidad para enlazarse con CD45RO y CD45RB. Un derivado funcional incluye fragmentos y análogos de péptido de un polipéptido de acuerdo con la presente invención. Los fragmentos comprenden regiones dentro de la secuencia de un polipéptido de acuerdo con la presente invención, por ejemplo de una secuencia especificada. El término "derivado" se utiliza para definir variantes de la secuencia de aminoácidos, y modificaciones covalentes de un polipéptido de acuerdo con la presente invención, por ejemplo de una secuencia especificada. Los derivados funcionales de un polipéptido de acuerdo con la

presente invención, por ejemplo de una secuencia
especificada, de preferencia tienen cuando menos
aproximadamente el 65 por ciento, más preferiblemente cuando
menos aproximadamente el 75 por ciento, todavía de una manera
5 más preferible cuando menos aproximadamente el 85 por ciento,
y de una manera muy preferible cuando menos aproximadamente
el 95 por ciento de homología de secuencia total con la
secuencia de aminoácidos de un polipéptido de acuerdo con la
presente invención, por ejemplo de una secuencia
10 especificada, y retienen sustancialmente la capacidad para
enlazarse con CD45RO y CD45RB.

El término "modificación covalente" incluye
modificaciones de un polipéptido de acuerdo con la presente
invención, por ejemplo de una secuencia especificada; o un
15 fragmento de la misma con un agente derivador orgánico
proteínáceo o no proteínáceo, fusiones con secuencias de
polipéptidos heterólogos, y modificaciones posteriores a la
traducción. Los polipéptidos covalentes modificados, por
ejemplo de una secuencia especificada, todavía tienen la
20 capacidad para enlazarse con CD45RO y CD45RB mediante
reticulación. Las modificaciones covalentes se introducen
tradicionalmente mediante la reacción de los residuos de
aminoácidos dirigidos con un agente de derivación orgánico
que sea capaz de reaccionar con los lados seleccionados o los
25 residuos terminales, o mediante mecanismos de arnés de las

modificaciones posteriores a la traducción que funcionen en células hospederas recombinantes seleccionadas. Ciertas modificaciones posteriores a la traducción son el resultado de la acción de las células hospederas recombinantes sobre el polipéptido expresado. Los residuos de glutaminilo y asparaginilo son con frecuencia desamidados posteriormente a la traducción hasta los residuos de glutamilo y aspartilo correspondientes. De una manera alternativa, estos residuos se desaminan bajo condiciones ligeramente ácidas. Otras modificaciones posteriores a la traducción incluyen hidroxilación de prolina y lisina, fosforilación de los grupos hidroxilo de los residuos de serilo, tirosina o treonilo, metilación de los grupos α -amino de las cadenas laterales de lisina, arginina, e histidina, ver, por ejemplo, T.E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W. H. Freeman & Co., San Francisco, páginas 79-86 (1983). Las modificaciones covalentes, por ejemplo, incluyen proteínas de fusión que comprenden un polipéptido de acuerdo con la presente invención, por ejemplo de una secuencia especificada y sus variantes de secuencia de aminoácidos, tales como inmunoadhesinas, y fusiones N-terminales con secuencias de señales heterólogas.

“Homología” con respecto a un polipéptido nativo y su derivado funcional, se define en la presente como el porcentaje de residuos de aminoácidos en la secuencia

candidata que son idénticos a los residuos de un polipéptido nativo correspondiente, después de alinear las secuencias e introducir huecos, si es necesario, para alcanzar el máximo porcentaje de homología, y sin considerar cualesquiera sustituciones conservadoras como parte de la identidad de las secuencias. Ni las extensiones N- ó C-terminales ni las inserciones se interpretarán para reducir la identidad o la homología. Los métodos y programas de computación para el alineamiento son bien conocidos.

10 "Aminoácidos" se refiere a todos los L- α -aminoácidos que se presentan naturalmente, por ejemplo e incluyendo D-aminoácidos. Los aminoácidos se identifican mediante las designaciones de una sola letra o de tres letras bien conocidas.

15 El término "variante de secuencia de aminoácidos" se refiere a moléculas con algunas diferencias en sus secuencias de aminoácidos, comparándose con un polipéptido de acuerdo con la presente invención, por ejemplo de una secuencia especificada. Las variantes de secuencias de aminoácidos de un polipéptido de acuerdo con la presente invención, por ejemplo de una secuencia especificada, todavía tienen la capacidad para enlazarse con CD45RO y CD45RB. Las variantes de sustitución son aquéllas que tienen cuando menos un residuo de aminoácido removido, y un aminoácido diferente
25 insertado en su lugar en la misma posición en un polipéptido

de acuerdo con la presente invención, por ejemplo de una
secuencia especificada. Estas sustituciones pueden ser
individuales, en donde solamente se haya sustituido un
aminoácido en la molécula, o pueden ser múltiples, en donde
5 se hayan sustituido dos o más aminoácidos en la misma
molécula. Las variantes de inserción son aquéllas con uno o
más aminoácidos insertados inmediatamente adyacentes a un
aminoácido en una posición particular en un polipéptido de
acuerdo con la presente invención, por ejemplo de una
10 secuencia especificada. Inmediatamente adyacente a un
elemento de aminoácido conectado con el grupo funcional α -
carboxilo ó α -amino del aminoácido. Las variantes de
supresión son aquéllas con uno o más aminoácidos en un
polipéptido de acuerdo con la presente invención, por ejemplo
15 de una secuencia especificada, removidos. Ordinariamente, las
variantes de supresión tendrán uno o dos aminoácidos
suprimidos en una región particular de la molécula.

También hemos encontrado las secuencias de
polinucleótidos de:

- 20 - GGCCAGTCAGAACATTGGCACAAGCATACAGTG, que codifica la
secuencia de aminoácidos de la CDR1,
- TTCTTCTGAGTCTATCTCTGG, que codifica la secuencia de
aminoácidos de la CDR2,
- ACAAAGTAATACCTGGCCATTCACGTT, que codifica la secuencia
25 de aminoácidos de la CDR3,

- TTATATTATCCACTG, que codifica la secuencia de aminoácidos de la CDR1',
- TTTTAATCCTTACAATCATGGTACTAAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAG, que codifica la secuencia de aminoácidos de la CDR2',
- 5 - AGGACCCTATGCCTGGTTTGACACCTG, que codifica la secuencia de aminoácidos de la CDR3',
- SEQ ID NO:5, que codifica un polipéptido de la SEQ ID NO:1, es decir, la región variable de una cadena ligera de un anticuerpo monoclonal de acuerdo con la presente invención;
- 10 - SEQ ID NO:6, que codifica un polipéptido de la SEQ ID NO:2, es decir, la región variable de la cadena pesada de un anticuerpo monoclonal de acuerdo con la presente invención;
- SEQ ID NO:11, que codifica un polipéptido de la SEQ ID NO:9, es decir, una región variable de cadena pesada que
- 15 incluye CDR1, CDR2, y CDR3 de acuerdo con la presente invención;
- SEQ ID NO:12, que codifica un polipéptido de la SEQ ID NO:10, es decir, una región variable de cadena pesada que incluye las CDR1, CDR2, y CDR3 de acuerdo con la presente
- 20 invención;
- SEQ ID NO:13, que codifica un polipéptido de la SEQ ID NO:7, es decir, la región variable de cadena ligera que incluye las CDR1', CDR2', y CDR3' de acuerdo con la presente invención; y
- 25 - SEQ ID NO:14, que codifica un polipéptido de la SEQ ID

NO:8, es decir, una región variable de cadena ligera que incluye las CDR1', CDR2', y CDR3' de acuerdo con la presente invención.

En otro aspecto, la presente invención proporciona
 5 polinucleótidos aislados que comprenden polinucleótidos que codifican una molécula de enlace de CD45RO/RB, por ejemplo que codifican la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2, y CDR3 de acuerdo con la presente, y/o, de preferencia, y polinucleótidos que codifican la secuencia de aminoácidos de
 10 las CDR1', CDR2', y CDR3' de acuerdo con la presente invención; y

polinucleótidos que comprenden un polinucleótido de la SEQ ID NO:5, y/o, de preferencia, un polinucleótido de la SEQ ID NO:6; y

15 polinucleótidos que comprenden polinucleótidos que codifican un polipéptido de la SEQ ID NO:7 o de la SEQ ID NO:8, y un polipéptido de la SEQ ID NO:9 o de la SEQ ID NO:10, por ejemplo que codifica:

- un polipéptido de la SEQ ID NO:7 y un polipéptido
 20 de la SEQ ID NO:9,
- un polipéptido de la SEQ ID NO:7 y un polipéptido de la SEQ ID NO:10,
- un polipéptido de la SEQ ID NO:8 y un polipéptido de la SEQ ID NO:9, ó
- 25 - un polipéptido de la SEQ ID NO:8 y un polipéptido

de la SEQ ID NO:10; y

polinucleótidos que comprenden un polinucleótido de la SEQ ID NO:11 o de la SEQ ID NO:12, y un polinucleótido de la SEQ ID NO:13 o un polinucleótido de la SEQ ID NO:14, que
5 comprende de preferencia:

- un polipéptido de la SEQ ID NO:11 y un polipéptido de la SEQ ID NO:13,
- un polipéptido de la SEQ ID NO:11 y un polipéptido de la SEQ ID NO:14,
- 10 - un polipéptido de la SEQ ID NO:12 y un polipéptido de la SEQ ID NO:13, ó
- un polipéptido de la SEQ ID NO:12 y un polipéptido de la SEQ ID NO:14.

"Polinucleótido", si no se especifica de otra
15 manera en la presente, incluye cualquier polirribonucleótido o polidesoxirribonucleótido, que puede ser ARN ó ADN no modificados, o ARN ó ADN modificados, incluyendo, sin limitación, ARN de una sola cadena y de doble cadena, y ARN que sea una mezcla de regiones de una sola cadena y de doble
20 cadena.

Un polinucleótido de acuerdo con la presente invención, por ejemplo un polinucleótido que codifique la secuencia de aminoácidos CDR1, CDR2, CDR3, CDR1', CDR2', CDR3', o de la SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID
25 NO:4, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, ó de la SEQ ID

NO:10, respectivamente, tal como un polinucleótido de la SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, o de la SEQ ID NO:14, respectivamente, incluye variantes alélicas del mismo y/o sus complementos; por ejemplo incluyendo un polinucleótido que se hibride en la secuencia de nucleótidos de las SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, ó SEQ ID NO:14, respectivamente; por ejemplo que codifique un polipéptido que tenga cuando menos el 30 por ciento de identidad con las SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, ó SEQ ID NO:10, respectivamente, por ejemplo incluyendo un derivado funcional de este polipéptido, por ejemplo el derivado funcional que tiene cuando menos el 65 por ciento de homología con las SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, ó SEQ ID NO:10, respectivamente, por ejemplo el derivado funcional que incluye modificaciones covalentes de las SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, ó SEQ ID NO:10, respectivamente, por ejemplo el derivado funcional que incluye las variantes de secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, ó SEQ ID NO:10, respectivamente; por ejemplo una SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, ó SEQ ID NO:14, respectivamente,

incluye una secuencia que, como un resultado de la redundancia (degeneración) del código genético, también codifica un polipéptido de las SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, 5 ó SEQ ID NO:10, respectivamente, o codifica un polipéptido con una secuencia de aminoácidos que tiene cuando menos un 80 por ciento de identidad con la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, ó SEQ ID NO:10, 10 respectivamente.

Una molécula de enlace de CD45RO/RB, por ejemplo que sea un anticuerpo quimérico o humanizado, se puede producir mediante técnicas de ADN recombinante. Por consiguiente, se pueden construir una o más moléculas de ADN 15 que codifiquen el CD45RO/RB, se colocan bajo secuencias de control apropiadas, y se transfieren a un hospedero adecuado (organismo) para su expresión mediante un vector apropiado.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un polinucleótido que codifica una sola cadena pesada y/o 20 ligera de una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención; y el uso de un polinucleótido de acuerdo con la presente invención para la producción de una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención, por medios recombinantes.

25 Una molécula de enlace de CD45RO/RB se puede

obtener de acuerdo con, por ejemplo análogamente a, un método convencional, junto con la información proporcionada en la presente, por ejemplo con el conocimiento de la secuencia de aminoácidos de las regiones hipervariables o variables, y las
5 secuencias de polinucleótidos que codifiquen estas regiones. Un método para construir un gen de dominio variable, por ejemplo, se describe en la Patente Europea Número EP 239,400, y se puede resumir brevemente como sigue: se puede clonar un gen que codifique una región variable de un anticuerpo
10 monoclonal de cualquier especificidad. Se determinan los segmentos de ADN que codifiquen las regiones de estructura e hipervariables, y se remueven los segmentos de ADN que codifiquen las regiones hipervariables. Se preparan casetes de CDR sintéticas de doble cadena mediante la síntesis del
15 ADN de acuerdo con las secuencias de las CDR y CDR' especificadas en la presente. Estos casetes son provistos con extremos pegajosos, de tal manera que se puedan ligar en las uniones de una estructura deseada de origen humano. También se pueden preparar polinucleótidos que codifiquen anticuerpos
20 de una sola cadena de acuerdo con, por ejemplo de una manera análoga a, un método convencional. Un polinucleótido de acuerdo con la presente invención así preparado, se puede transferir convenientemente a un vector de expresión apropiado.

25 Las líneas celulares apropiadas se pueden encontrar

de acuerdo con, por ejemplo de una manera análoga a, un método convencional. Los vectores de expresión, por ejemplo que comprenden promotores adecuados y genes que codifiquen las partes constantes de cadena pesada y ligera son conocidos, por ejemplo, y están comercialmente disponibles. Los hospederos apropiados son conocidos o se pueden encontrar de acuerdo con, por ejemplo de una manera análoga a, un método convencional, e incluyen cultivo celular o animales transgénicos.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un vector de expresión que comprende un polinucleótido que codifica una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención, por ejemplo de la secuencia SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, ó SEQ ID NO:18.

En otro aspecto, la presente invención proporciona:

- un sistema de expresión que comprende un polinucleótido de acuerdo con la presente invención, en donde este sistema de expresión o parte del mismo es capaz de producir una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención, cuando este sistema de expresión o parte del mismo está presente en una célula hospedera compatible; y

- una célula hospedera aislada que comprende un sistema de expresión como se define anteriormente.

Hemos encontrado además que una molécula de enlace

de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención inhibe las respuestas aloinmunes primarias en una forma dependiente de la dosis, como se determina mediante MLR *in vitro*. Los resultados indican que las células que se habían aloactivado en la presencia de una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención, se deterioran en sus respuestas al aloantígeno. Esto confirma la indicación de que una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención puede actuar directamente sobre las células T alorreactivas efectoras y modular su función. En adición, se estudiaron además las propiedades funcionales de las células T derivadas a partir de la MLR primaria, en experimentos de re-estímulo en MLR secundaria, utilizando células estimulantes específicas o estimulantes terceros para evaluar la especificidad de los efectos funcionales observados. Hemos encontrado que las células derivadas a partir de las MLRs primarias, en donde está presente una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención, se deterioraron en su capacidad para responder al estímulo óptimo subsecuente con células estimulantes específicas, aunque no hubo anticuerpo agregado a los cultivos secundarios. La especificidad de la inhibición se demostró mediante la capacidad de las células tratadas con una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención para responder normalmente a las células

estimulantes a partir de donadores terceros no relacionados. Los experimentos de re-estímulo utilizando células T derivadas a partir de cultivos de MLR primaria indican de esta manera que las células que se habían aloactivado con una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención, tienen una hiporrespuesta, es decir son tolerantes, al aloantígeno original.

Además, hemos encontrado que la proliferación celular en las células previamente tratadas con una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención se podría rescatar mediante la IL-2 exógena. Esto indica que el tratamiento de las células T alorreactivas con una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención, induce un estado de tolerancia. En realidad, las respuestas proliferativas reducidas observadas en las células tratadas con una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención, se debieron al deterioro de la función de las células T, y estas células pudieron responder a la IL-2 exógena, indicando que estas células están en un estado anérgico, verdaderamente sin respuesta. La especificidad de esta respuesta se demostró mediante la capacidad de las células tratadas con una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención para proliferarse normalmente con células donadoras no relacionadas hasta el nivel de las células tratadas de

control.

En adición, los experimentos indican que el enlace de una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención con CD45RO y CD45RB, puede inhibir las
5 respuestas de memoria de las células mononucleares de la sangre periférica (PBMC) a partir de donadores inmunizados al antígeno de recuerdo específico. El enlace de una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención con CD45RO y CD45RB, por consiguiente, también es efectivo para
10 inhibir las respuestas de memoria a la Ag soluble. La capacidad de una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención para inhibir las respuestas de recuerdo al tétanos en las PBMC a partir de donadores inmunizados, indican que la molécula de enlace de CD45RO/RB
15 de acuerdo con la presente invención puede dirigir y modular la activación de las células T de memoria. Por ejemplo, estos datos indican que una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención, en adición a reconocer las células T alorreactivas y activadas, puede modular su
20 función, dando como resultado la inducción de la anergia de células T. Esta propiedad puede ser importante en el tratamiento de respuestas inmunes continuas a los autoantígenos y alergenios, y posiblemente a los aloantígenos, como se ven en las enfermedades autoinmunes, en la alergia, y
25 en el rechazo crónico, y en enfermedades tales psoriasis,

enfermedad inflamatoria del intestino, en donde las respuestas de memoria tienen un papel en el mantenimiento del estado de la enfermedad. Se cree que es una característica importante en una situación de enfermedad, tal como en enfermedades autoinmunes, en donde las respuestas de memoria a los autoantígenos pueden tener un papel importante para el mantenimiento de la enfermedad.

También hemos encontrado que una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención, puede modular las respuestas proliferativas de células T en una respuesta de linfocitos mixtos (MLR) *in vivo*, es decir, se encontró que una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención tiene propiedades inhibitoras correspondientes en la prueba *in vivo*.

Por consiguiente, una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención, puede tener propiedades inmunosupresoras y tolerogénicas, y puede ser útil para la inducción de tolerancia *in vivo* y *ex vivo*, a los aloantígenos, autoantígenos, alérgenos, y antígenos de la flora bacteriana, por ejemplo una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención puede ser útil en el tratamiento y profilaxis de enfermedades, por ejemplo incluyendo enfermedades autoinmunes, tales como, pero no limitándose a, artritis reumatoide, tiroiditis autoinmune, enfermedad de Graves, diabetes tipo I y tipo II, esclerosis

múltiple, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Sjögren, escleroderma, gastritis autoinmune, glomerulonefritis, rechazo de trasplante, por ejemplo rechazo de aloinjerto y xenoinjerto de órganos y tejidos, enfermedad del injerto
5 contra el huésped (GVHD), y también psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino, y alergias.

En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención, como un producto farmacéutico, por
10 ejemplo en el tratamiento y profilaxis de enfermedades autoinmunes, rechazo de trasplante, psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino, y alergias.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la
15 presente invención, para la producción de un medicamento en el tratamiento y profilaxis de enfermedades asociadas con enfermedades autoinmunes, rechazo de trasplante, psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino, y alergias.

En otro aspecto, la presente invención proporciona
20 una composición farmacéutica que comprende una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente invención, en asociación con cuando menos un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Una composición farmacéutica puede comprender
25 además, por ejemplo, ingredientes activos, por ejemplo otros

anticuerpos inmunomoduladores, tales como, pero no confinándose a, anti-ICOS, anti-CD154, anti-CD134L o proteínas recombinantes tales como, pero no confinándose a, rCTLA-4 (CD152), rOX40 (CD134), ó compuestos
5 inmunomoduladores, tales como, pero no confinándose a, ciclosporina A, FTY720, RAD, rapamicina, FK506, 15-desoxiespergualina, esteroides.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método de tratamiento y/o profilaxis de enfermedades
10 asociadas con enfermedades autoinmunes, rechazo de trasplante, psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino, y alergias, el cual comprende administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento y/o profilaxis, una cantidad efectiva de una molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo
15 con la presente invención, por ejemplo en la forma de una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención.

Las enfermedades autoinmunes que se van a tratar con la molécula de enlace de la presente invención incluyen
20 además, pero no se limitan a, artritis reumatoide, tiroiditis autoinmune, enfermedad de Graves, diabetes tipo I y tipo II, esclerosis múltiple, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Sjögren, escleroderma, gastritis autoinmune, glomerulonefritis; rechazo de trasplante, por ejemplo rechazo
25 de aloinjerto y xenoinjerto de órganos y tejidos, y

enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD).

EJEMPLOS

La invención se entenderá más completamente
5 haciendo referencia a los siguientes ejemplos. Sin embargo,
no deben interpretarse para limitar el alcance de la
invención. En los siguientes ejemplos, todas las temperaturas
están en grados Celsius.

El "mAb candidato" o "anticuerpo quimérico" es una
10 molécula de enlace de CD45RO/RB de acuerdo con la presente
invención, que comprende la cadena ligera de la SEQ ID NO:3,
y la cadena pesada de la SEQ ID NO:4.

Se utilizan las siguientes abreviaturas:

15	ELISA	ensayo inmunosorbente enlazado con enzima
	FACS	selección de células activadas por fluorescencia
	FITC	isotiocianato de fluoresceína
	FBS	suero fetal de bovino
	GVHD	enfermedad del injerto contra el huésped
20	HCMV	promotor de citomegalovirus humano
	IgE	inmunoglobulina isotipo E
	IgG	inmunoglobulina isotipo G
	PBS	suero regulado con fosfato
	PCR	reacción en cadena de la polimerasa
25	xGVHD	enfermedad del xenoinjerto contra el huésped

Ejemplo 1: Respuesta Primaria de Linfocitos Mixtos (MLR)
Células

Se obtienen muestras de sangre de donadores humanos
5 sanos. Se aíslan las células mononucleares de la sangre
periférica (PBMC) mediante centrifugación sobre Ficoll-
Hypaque (Pharmacia LKB) a partir de leucocitos de sangre
periférica entera, leucoferesis o recubrimientos con un tipo
de sangre conocido, pero un tipo de HLA desconocido. En
10 algunos experimentos de MLR, se utilizan las PBMC
directamente como las células estimulantes después de la
irradiación a 40 Gy. En los otros experimentos, las células T
se agotaron de las PBMC utilizando Dynabeads CD2 ó CD3
(Dynal, Oslo, Noruega). Las perlas y las células
15 contaminantes se remueven mediante un campo magnético. Las
PBMC agotadas de células T se utilizan como células
estimulantes después de la irradiación.

Se utilizan PBMC, células T CD3⁺, o células T CD4⁺
como las células respondentes en las MLR. Las células se
20 preparan a partir de diferentes donadores para las células
estimulantes. Las células T CD3⁺ se purifican mediante
selección negativa utilizando anticuerpo monoclonal anti-CD16
(Zymed, CA), Dynabeads de IgG de cabra anti-ratón, Dynabeads
anti-CD14, Dynabeads CD19. En adición, se utilizan Dynabeads
25 anti-CD8 para purificar las células T CD4⁺. Las células

obtenidas se analizan mediante FACScan ó FACSCalibur (Becton Dickinson & Co., CA), y la pureza de las células obtenidas fue de >75 por ciento. Las células se suspenden en un medio RPMI 1640, complementado con suero fetal de bovino inactivado por calor al 10 por ciento, penicilina, estreptomicina, y L-glutamina.

Reactivos

También se genera el anticuerpo monoclonal quimérico anti-CD45RO/RB, el "mAb candidato", y un anticuerpo quimérico de control emparejado con el isotipo. Anticuerpo IgG₁ de control de ratón (humano) específico para KLH (hemocianina de limpete de orificio) o IL-10 humana recombinante adquirida en BD Pharmingen (San Diego, CA). El anticuerpo monoclonal anti-CD54 humano es de acuerdo con Lederman y colaboradores, 1992.

Respuesta Primaria de Linfocitos Mixtos (MLR)

Se mezclan alícuotas de 1×10^5 PBMC ó 5×10^4 de células CD3⁺ ó CD4⁺ con 1×10^5 PBMC irradiadas o 5×10^4 PBMC irradiadas agotadas de células T (50 Gy) en cada pozo de placas de cultivo de 96 pozos (Costar, Cambridge, MA), en la presencia del anticuerpo monoclonal indicado o en ausencia del anticuerpo. En algunos experimentos, se agrega el fragmento F(ab')₂ de Ig de cabra anti-ratón o de Ig de cabra

anti-humana específica para la porción Fc (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA), en 10 microgramos/mililitro en adición al anticuerpo monoclonal candidato, para asegurar la reticulación óptima *in vitro* de las moléculas CD45 blanco.

5 Las células mixtas se cultivan durante 4 ó 5 días a 37°C en CO₂ al 5 por ciento, y se determina la proliferación impulsando las células con ³H-timidina durante las últimas 16-20 horas de cultivo. Otros experimentos son similares a los descritos anteriormente, pero con las siguientes

10 excepciones: 1) el medio utilizado es EX-VIVO (Bio-Whittaker) que contiene suero fetal de bovino al 10 por ciento y plasma humano al 1 por ciento; 2) se utiliza IgG total anti-ratón (5 microgramos/mililitro) como el paso de reticulación secundario; 3) la irradiación de las células estimulantes es

15 de 60 Gy.

La MLR primaria se realiza en la presencia del "mAb candidato" o de la IgG quimérica de control (10 microgramos/mililitro), ambos con un reactivo del segundo paso, el fragmento F(ab')₂ de Ig de cabra anti-humana

20 específica para la porción Fc (10 microgramos/mililitro). Se calcula el porcentaje de inhibición por el "mAb candidato" en comparación con la proliferación celular en la presencia de la IgG₁ de control. Los resultados se muestran en la siguiente TABLA 1.

TABLA 1

Inhibición de la MLR primaria mediante 10
microgramos/mililitro de un mAb candidato de acuerdo con la
presente invención

Respondente	Estimulante (PBMC Irr.)	% de Inhibición
#211 CD4	#219 CD3	63.51
#220 CD4	#219 CD3 agotadas	63.07
#227 CD4	#220 CD3 agotadas	65.96
#229 CD4	#219 CD3 agotadas	50.76
Promedio + SD		60.83 +6.83 *

*Significativamente diferente del valor de control (P
<0.001).

Un mAb candidato de acuerdo con la presente
invención inhibe la MLR primaria, como se puede ver en la
Tabla 1. El efecto inhibidor promedio es del 60.83 ± 6.83 por
ciento en células T CD4⁺ derivadas a partir de cuatro
donadores diferentes, y estadísticamente significativas.

La inhibición de la MLR primaria por parte del "mAb
candidato" se muestra como dependiente de la dosis en el
rango de 0.001 a 10 microgramos/mililitro de "mAb candidato",

como se muestra en la Figura 1.

La IC_{50} para la inhibición de la MLR primaria mediante un "mAb candidato" se determina a partir de los resultados de tres experimentos de MLR separados, utilizando 5 PBMC donadoras como células respondentes. Por consiguiente, las células T $CD4^+$ respondentes de los Donadores #229 y #219 y las PBMC irradiadas agotadas de células T como estimulantes, se mezclan en la presencia de un "mAb candidato" o un anticuerpo quimérico de control con 10 10 microgramos/mililitro del fragmento $F(ab')_2$ de Ig de cabra anti-humana. Los experimentos se repiten tres veces, y se calcula el porcentaje de proliferación en la presencia de un "mAb candidato", en comparación con la proliferación de células T en la presencia del anticuerpo de control. El valor 15 IC_{50} se determina utilizando Origin (V. 6.0®). El valor IC_{50} de la actividad celular se calcula como 0.87 ± 0.35 nM (0.13 ± 0.052 microgramos/mililitro).

Ejemplo 2: MLR Secundaria

20 Con el objeto de evaluar si un "mAb candidato" induce falta de responsividad de las células T $CD4^+$ a los aloantígenos específicos, se realiza la MLR secundaria en ausencia de cualquier anticuerpo después de la MLC primaria. Se cultivan células T $CD4^+$ con células estimulantes 25 alogénicas irradiadas (PBMC agotadas de células T), en la

presencia del anticuerpo indicado, en placas de cultivo de 96 pozos durante 10 días (MLC primaria). Luego las células se recolectan, se ponen en capas sobre un gradiente de Ficoll-Hypaque para remover las células muertas, se lavan dos veces con RPMI, y se vuelven a estimular con las mismas células estimulantes terceras o con IL-2 (50 unidades/mililitro). Las células se cultivan durante 3 días, y se determina la respuesta proliferativa impulsando las células con ³H-timidina durante las últimas 16 a 20 horas de cultivo.

10 Específicamente, las células T CD4⁺ se cultivan con células estimulantes alogénicas irradiadas (PBMC agotadas de células T tomadas de otros donadores) en la presencia de 10 microgramos/mililitro del "mAb candidato", el anticuerpo quimérico IgG₁ de control, y el fragmento de F(ab')₂ de Ig de cabra anti-humana. La proliferación de la MLR primaria se determina en el día 5. Para la MLR secundaria, las células respondentes y estimulantes se cultivan durante 10 días en la presencia del "mAb candidato", luego las células se cosechan, se lavan dos veces en RPMI 1640, y se vuelven a estimular con el estimulante específico, los estimulantes terceros, o IL-2 (50 unidades/mililitro) en ausencia de cualquier anticuerpo. La proliferación celular se determina en el día 3. Los resultados se estipulan en la Tabla 2.

TABLA 2

5	Células T CD4⁺ respondentes, Donador #	% de Inhibición de MLR Secundaria
	#211	49.90*
	#220	59.33*
	#227	58.68*

10 *Significativamente diferente del valor de control ($p < 0.001$ determinado mediante la prueba t, SigmaStat V.2.03). # $p < 0.046$.

Con el objeto de probar si la proliferación
15 deteriorada se debe a la falta de responsividad como una consecuencia del tratamiento con un "mAb candidato", las células derivadas a partir de la MLR primaria se cultivan en la presencia de IL-2 (50 unidades/mililitro). La adición de IL-2 da como resultado el rescate de las respuestas
20 proliferativas de las células T que se habían tratado con un "mAb candidato" en la MLR primaria, hasta niveles similares a los observados en la presencia del anticuerpo de control IgG₁. Estos datos indican que la respuesta secundaria deteriorada en las células T tratadas con un "mAb candidato"
25 se debe a la alteración funcional de las células T respondentes que llegan a ser no responsivas a las células

estimulantes específicas.

El porcentaje de inhibición se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$5 \quad \frac{\text{c.p.m. con Ab de control} - \text{c.p.m. con "mAb candidato"}}{\text{c.p.m. con Ab de control}} \times 100$$

El análisis estadístico se realiza utilizando SigmaStat (Vers. 2.03).

10 Los datos se analizan mediante ANOVA de dos vías, seguido por el método de Dunnett. En todos los procedimientos de prueba, las probabilidades <0.05 se consideran significativas. En algunos experimentos se utiliza la prueba t (SigmaStat V.2.03).

15

Ejemplo 3: Estudios de sobrevivencia *in vivo* en Ratones SCID

Injerto de hu-PBL en Ratones SCID

20 Se inyectan células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC) intraperitonealmente en ratones SCID, C.B 17/Gbms Tac-Prkdc^{scid} Lyst^{bg} (Taconic, Germantown, NY) en una cantidad suficiente para inducir una enfermedad xenogénica letal del injerto contra el huésped (xGvHD) en <90 por ciento de los ratones dentro de cuatro semanas
25 después de la transferencia de las células. Estos ratones

SCID tratados se designan posteriormente en la presente como ratones hu-PBL-SCID.

Tratamiento con Anticuerpo Monoclonal de Ratones hu-PBL-SCID

5 Los ratones hu-PBL-SCID se tratan con un "mAb candidato" o con controles de anticuerpo monoclonal emparejado con isotipo de ratón o quimérico en el día 0, inmediatamente después de la inyección de PBMC, en el día 3, en el día 7, y a intervalos semanales posteriormente. Los
10 anticuerpos monoclonales se suministran subcutáneamente en 100 microlitros de suero regulado con fosfato en una concentración final de 5 miligramos/kilogramo de peso del cuerpo. El tratamiento se detuvo cuando se murieron todos los animales de control.

15 ***Evaluación de los Resultados del Tratamiento***

 El criterio principal para evaluar la eficacia de un "mAb candidato" en este estudio, fue la sobrevivencia de los ratones hu-PBL-SCID. El significado de los resultados se evalúa mediante el método estadístico de análisis de
20 sobrevivencia utilizando la prueba de clasificación de registro (Método de Mantel), con la ayuda del software Systat v9.01. El método de análisis de sobrevivencia es una prueba no paramétrica, la cual no solamente considera si un ratón particular todavía está vivo, sino también si se sacrificó
25 por razones irrelevantes para el tratamiento/enfermedad,

tales como el requerimiento de realizar un análisis *in vitro* con sus órganos/células. Se obtienen biopsias de hígado, pulmón, riñón, y bazo de los ratones muertos para una evaluación adicional. En adición, los ratones hu-PBL-SCID se
5 pesan al principio (antes de la transferencia de las células) y a través de todo el experimento (cada 2 días) como una estimación indirecta de su estado de salud. Se generaron líneas de regresión lineal utilizando los valores del peso del cuerpo contra los días después de la transferencia de
10 PBMC obtenidos de cada ratón y subsecuentemente se compararon sus curvas (ratones de control contra tratados con anti-CD45) utilizando la prueba de Mann-Whitney no paramétrica.

Resultados

Todos los ratones hu-PBL-SCID tratados con los
15 controles de anticuerpo monoclonal de ratón tuvieron leucocitos humanos infiltrados en el pulmón, en el hígado, y en el bazo, y murieron (4/4) dentro de aproximadamente 2 a 3 semanas después de la transferencia de las células. La muerte es una posible consecuencia de xGvHD. Los ratones tratados
20 con el anticuerpo monoclonal de control además perdieron peso de una manera lineal, aproximadamente el 10 por ciento y más dentro de 3 semanas.

Todos los ratones hu-PBL-SCID tratados con un "mAb candidato" sobrevivieron (4/4) sin ningún signo aparente de
25 enfermedad más de 4 semanas, inclusive aunque se detuviera el

tratamiento con "mAb candidato" después de 3 semanas. Los ratones tratados con el "mAb candidato" incrementaron su peso de una manera lineal, hasta aproximadamente el 5 por ciento dentro de 4 semanas.

5

Ejemplo 4: Expresión de los anticuerpos de la invención

Expresión del Anticuerpo Humanizado que Comprende una SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, ó SEQ ID NO:10

Se construyen vectores de expresión de acuerdo con el mapa del plásmido mostrado en las Figuras 2 a 5, que comprenden los nucleótidos correspondientes que codifican la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera humanizada humV1 (SEQ ID NO:7), la región variable de cadena ligera humanizada humV2 (SEQ ID NO:8), la región variable de cadena pesada humanizada VHE (SEQ ID NO:9), o la región variable de cadena pesada humanizada VHQ (SEQ ID NO:10), respectivamente. Estos vectores de expresión tienen las secuencias de ADN (nucleótido) SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, ó SEQ ID NO:18, respectivamente.

20 Construcción de los Vectores de Expresión de Cadena Pesada y Ligera del Anticuerpo Humanizado

Vectores de expresión de cadena ligera kappa humanos para las versiones VLh y VLm.

Con el objeto de construir el vector de expresión final que codifica para la cadena ligera humanizada completa

25

del isotipo kappa humano, se separaron los fragmentos de ADN que codificaban las regiones variables de cadena ligera completas (VLh y VLm) a partir de los VLh y VLm que contenían los vectores de clonación de PCR-Script (Stratagene) (región VLm), utilizando HindIII y BgIII. Entonces se subclonaron los fragmentos purificados en gel, en los sitios HindIII y BamHI del vector de expresión kappa C21-HCMV, que se creó durante la construcción del anticuerpo humanizado anti-IgE TESC-21 (Kolbinger y colaboradores, 1993), y que se recibió originalmente de M. Bending (MRC Collaborative Centre, Londres, UK) (Maeda y colaboradores, 1991). Los productos de la ligación se purificaron mediante extracción con fenol/cloroformo, y se electroincorporaron en la cepa XL1-Blue de Epicurian Coli® competente para electroincorporación (Cat. No. #200228, Stratagene). Después de aplicarse sobre placas de agar con LB/amp durante la noche a 37°C, se recogieron 12 colonias de cada uno para preparar el ADN del plásmido a partir de un cultivo de 3 mililitros utilizando el BioRobot 9600 (Qiagen). Esto produjo los vectores de expresión de cadena ligera para las versiones de anticuerpos humanizados VLh y VLm, respectivamente, como se describe adicionalmente en las Figuras.

Vectores de Expresión de Cadena Pesada Gamma-1 Humanos para VHQ

Para la construcción del vector de expresión VHQ,

se tomó un planteamiento por pasos. Primero, se ensambló la región variable completa de VHQ mediante reacción en cadena de la polimerasa, de acuerdo con la metodología descrita en Kolbinger y colaboradores, 1993 (Protein Eng. noviembre de 1993; 6(8):971-80), y se subclonó en la expresión C21-HCMV-gamma-1, de donde se había removido el inserto C21 utilizando las mismas enzimas. Luego se subclonó un fragmento HindIII/BamHI del clon VHQ de PCRScrip que contenía la región variable completa, en el vector de expresión C21-HCMV-gamma-1 disociado con las mismas enzimas. Esto produjo el vector de expresión final para la versión del anticuerpo humanizado VHQ.

15 Vectores de Expresión de Cadena Pesada Gamma-1 Humanos para VHE

La construcción del vector de expresión VHE final que codificaba para la cadena pesada humanizada completa del isotipo humano gamma-1, se logró ligando directamente un fragmento de reacción en cadena de la polimerasa restringido con HindIII y BamHI que codificaba la región variable en los sitios HindIII y BamHI del vector de expresión C21-HCMV gamma-1 que se creó durante la construcción del anticuerpo humanizado anti-IgE TESC-21 (Kolbinger y colaboradores, 1993), y que también fue recibido originalmente de M. Bending (MRC Collaborative Centre, Londres, UK) (Maeda y

colaboradores, 1991).

Expresión Transitoria en Células COS

El siguiente protocolo de transfección se adapta para células COS adherentes en platos de cultivo celular de 150 milímetros, utilizando el Reactivo de Transfección SuperFect^{MR} (Cat. No. 301305, Qiagen). Se utilizan los cuatro diferentes vectores de expresión descritos anteriormente para la transfección transitoria de las células. Para la expresión del anticuerpo humanizado, se co-transfectan cada uno de dos clones que contienen los insertos de cadena pesada (VHE y VHQ, respectivamente) en células con cada uno de los dos clones que codifican para las cadenas ligeras (humV1 ó humV2, respectivamente), en total 4 diferentes combinaciones de vectores de expresión de cadena pesada y ligera (VHE/humV1, VHE/humV2, VHQ/humV1, y VHQ/humV2). Antes de la transfección, los plásmidos se linearizan con la endonucleasa de restricción PvuI que se disocia en la región que codifica el gen de resistencia para ampicilina. El día anterior a la transfección, se siembran 4×10^6 células COS en 30 mililitros de un medio de cultivo fresco, en platos de cultivo celular de 150 milímetros. La siembra en esta densidad celular generalmente produjo una confluencia del 80 por ciento después de 24 horas. En el día de la transfección, se diluyen cuatro combinaciones diferentes de vectores de expresión de ADN de cadena pesada y ligera linearizados (de

15 microgramos cada uno) en un volumen total de 900 microlitros de medio fresco sin suero ni antibióticos. Luego se mezclan completamente 180 microlitros del Reactivo de Transfección SuperFect con la solución de ADN. La mezcla de ADN se incuba durante 10 minutos a temperatura ambiente, para permitir la formación del complejo. Mientras tiene lugar la formación del complejo, se remueve el medio de cultivo de los cultivos de células COS, y las células se lavan una vez con suero regulado con fosfato. Entonces se agregan 9 mililitros de medio de cultivo fresco (que contiene suero fetal de bovino al 10 por ciento y antibióticos) a cada tubo de reacción que contiene los complejos de transfección, y se mezclan bien. La preparación final se transfiere inmediatamente a cada uno de cuatro cultivos que se van a transfectar, y se mezcla suavemente. Luego se incuban los cultivos celulares con los complejos de ADN durante 3 horas a 37°C y con CO₂ al 5 por ciento. Después de la incubación, se remueve el medio que contiene los complejos de transfección, y es reemplazado con 30 mililitros de medio de cultivo fresco. A las 48 horas después de la transfección, se cosechan los sobrenadantes de cultivo.

Concentración de los Sobrenadantes de Cultivo

Para el análisis ELISA y FACS, los sobrenadantes de cultivo recolectados a partir de las células COS transfectados con plásmidos de cadena pesada y ligera, se

concentran como sigue. Se agregan 10 mililitros de cada sobrenadante a Dispositivos de Filtro Centrífugos a Centriprep YM-50 (Cat. No. 4310, Millipore) como es descrito por el fabricante. Los filtros Centriprep se centrifugan durante 10 minutos a 3,000 rpm a temperatura ambiente. Luego se repite el paso de centrifugación nuevamente con los 20 mililitros restantes de sobrenadante, utilizando solamente 5 minutos de centrifugación, y supervisando la evolución de la concentración. Se recuperan los 500 microlitros intermedios de sobrenadante concentrado, se transfieren a nuevos Dispositivos de Filtro Centrífugos Microcon (Cat. No. 42412, Microcon), y se concentran adicionalmente siguiendo el protocolo del fabricante. Los sobrenadantes concentrados se centrifugan cuatro veces durante 24 minutos a 3,000 rpm a temperatura ambiente, una vez durante 10 minutos a 6,000 rpm, y luego tres veces durante 5 minutos, siempre supervisando la evolución de la concentración. El volumen final del medio acondicionado concentrado alcanzado es de 100 a 120 microlitros, que corresponden a una concentración de 250 a 300 veces del medio de cultivo original, y se almacena a 4°C hasta su uso. Para una comparación y control, se concentra de una manera similar el medio de cultivo de células no transfectadas, utilizando el mismo protocolo de centrifugación descrito anteriormente.

Ejemplo 5: Determinación de la Expresión de IgG Humana Recombinante Mediante ELISA

Para determinar las concentraciones de IgG del anticuerpo humano recombinante expresado en los sobrenadantes de cultivo, se ha desarrollado y optimizado un protocolo ELISA de emparedado, utilizando IgG humana como estándar. Las placas de microtitulación de 96 pozos, de fondo plano (Cat. No. 4-39454, Nunc Immunoplate Maxisorp) se recubren durante la noche a 4°C con 100 microlitros de IgG de cabra anti-humana (molécula entera, Cat. No. I1011, SIGMA) hasta la concentración final de 0.5 microgramos/mililitro en suero regulado con fosfato. Luego se lavan los pozos tres veces con regulador de lavado (suero regulado con fosfato conteniendo Tween 20 al 0.05 por ciento), y se bloquean durante 1.5 horas a 37°C con regulador de bloqueo (albúmina de suero bovino al 0.05 por ciento en suero regulado con fosfato). Después de tres ciclos de lavado, se preparan las muestras de anticuerpo y la IgG humana estándar (Cat. No. I4506, SIGMA) mediante dilución en serie de 1.5 veces en regulador de bloqueo. Se transfieren 100 microlitros de muestras diluidas o de estándar por duplicado a la placa recubierta, y se incuban durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de la incubación, las placas se lavan tres veces con regulador de lavado, y subsecuentemente se incuban durante 1 hora con 100 microlitros de la cadena ligera kappa de IgG de cabra anti-

humana conjugada con peroxidasa de rábano (Cat. No. A-7164, SIGMA) diluida a 1/4000 en regulador de bloqueo. Los pozos de control recibieron 100 microlitros de regulador de bloqueo, o medio de cultivo normal concentrado. Después del lavado, se realiza la cuantificación colorimétrica de la peroxidasa enlazada en los pozos de muestra y de estándar, utilizando un Estuche de Sustrato EIA de Peroxidasa TMB (Cat. No. 172-1067, Bio-Rad) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La mezcla de peroxidasa se agrega a 100 microlitros por pozo, y se incuba durante 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. La reacción colorimétrica se detiene mediante la adición de 100 microlitros de ácido sulfúrico 1 M, y se lee la absorbencia en cada pozo a 450 nanómetros, utilizando un lector de placas ELISA (Modelo 3350-UV, BioRad).

Con un coeficiente de correlación de 0.998 para la curva estándar de IgG, se determinan las siguientes concentraciones para los cuatro diferentes concentrados del cultivo (una concentración de aproximadamente 250 a 300 veces).

Sobrenadante de VHE/humV1 = 8.26 microgramos/mililitro
 Sobrenadante de VHE/humV2 = 6.27 microgramos/mililitro
 Sobrenadante de VHQ/humV1 = 5.3 microgramos/mililitro
 Sobrenadante de VHQ/humV2 = 5.56 microgramos/mililitro

Ejemplo 6: Análisis de Competencia FACS (Afinidad de

Enlace)

Se selecciona la línea de células T humanas PEER como la célula blanco para el análisis FACS, debido a que expresó el antígeno CD45 sobre su superficie celular. Para
5 analizar la afinidad de enlace de los sobrenadantes de anticuerpo humanizado, se realizan experimentos de competencia utilizando el anticuerpo quimérico marcado con FITC como una referencia, y se comparan con la inhibición del anticuerpo de ratón purificado y del anticuerpo quimérico.

10 Los cultivos de células PEER se centrifugan durante 10 segundos a 3000 rpm, y se remueve el medio. Las células se vuelven a suspender en el regulador FACS (suero regulado con fosfato conteniendo suero fetal de bovino al 1 por ciento y azida de sodio al 0.1 por ciento), y se siembran en una placa
15 de microtitulación de fondo redondo de 96 pozos, en una densidad celular de 1×10^5 células por pozo. La placa se centrifuga y se desecha el sobrenadante. Para los estudios de bloqueo, primero se agregan a cada pozo 25 microlitros del medio no transfectado concentrado o del anticuerpo de control
20 emparejado con el isotipo (controles negativos), anticuerpo de ratón no marcado o anticuerpo quimérico (controles positivos), así como el sobrenadante concentrado que contiene las diferentes combinaciones de anticuerpo humanizado (muestras), en las concentraciones indicadas en el texto.

25 Después de 1 hora de incubación a 4°C, las células PEER se

lavan con 200 microlitros de regulador FACS mediante centrifugación. Las células subsecuentemente se incuban durante 1 hora a 4°C con el anticuerpo quimérico conjugado con FITC en 25 microlitros de regulador FACS en la
5 concentración final de 20 microgramos/mililitro. Las células se lavan y se vuelven a suspender en 300 microlitros de regulador FACS conteniendo 2 microgramos/mililitro de yoduro de propidio, que permite dar compuerta a las células viables. Las preparaciones celulares se analizan en un citómetro de
10 flujo (FACSCalibur, Becton Dickinson).

El análisis FACS indica un bloqueo dependiente de la dosis del anticuerpo quimérico marcado con fluorocromo, mediante los sobrenadantes de cultivo de anticuerpo humanizado concentrados. No se ve ningún bloqueo dependiente
15 de la dosis del enlace del anticuerpo quimérico con el anticuerpo de control emparejado con el isotipo, indicando que el efecto de bloqueo por parte de las combinaciones de anticuerpos humanizados diferentes es específico del epítipo, y que parece que se retiene la especificidad del epítipo
20 después del proceso de humanización.

Ejemplo 7: Actividades Biológicas de Moléculas de Enlace de CD45RB/RO

En este estudio, hemos resuelto si el anticuerpo quimérico de enlace de CD45RB/RO, cuando está presente en
25 cultivos de células T humanas primarias policlonalmente

activadas (i) soporta la diferenciación de células T con un fenotipo Treg característico, (ii) previene o mejora la apoptosis en seguida de la activación de las células T, y (iii) afecta la expresión de los antígenos y receptores específicos del subconjunto después del re-estímulo.

El Anticuerpo Quimérico de Enlace de CD45RB/RO Mejora la Muerte Celular en las Células T Policlionalmente Activadas

Las células T primarias (mezcla de subconjuntos T CD4⁺ y CD8⁺) se sometieron a activación mediante el anticuerpo monoclonal anti-CD3 más anti-CD28 (200 nanogramos/mililitro de cada uno) en la presencia o en ausencia (=control) del anticuerpo quimérico de enlace de CD45RB/RO. El exceso de anticuerpos se removió mediante lavado en el día 2. Se utilizó 7-amino-actinomicina D (7-AAD) como el tinte para teñir el ADN recuperado por las células apoptóticas y necróticas, para medir la muerte celular en seguida de la activación. Los resultados muestran que la activación de las células T en la presencia del anticuerpo quimérico de enlace de CD45RB/RO incrementó la fracción de células positivas para 7-AAD que el doble en el día 2 después de la activación. En el día 7, la porción de células positivas para 7-AAD fue nuevamente similar en los cultivos de control y tratados con anticuerpo quimérico de enlace de CD45RB/RO.

Las Células T Tratadas con Anticuerpo Quimérico de Enlace de CD45RB/RO pero no con Anticuerpo Monoclonal de Control,

Exhiben un Fenotipo de Células Reguladoras T (Treg)

La mayor expresión de CD25 y la proteína reguladora CTLA-4 negativa (CD152) es un marcador de células Treg. La supresión funcional de las respuestas de células T primarias y secundarias mediante el anticuerpo quimérico de enlace de CD45RB/RO puede deberse a la inducción de las células Treg. Para resolver esta cuestión, se activaron las células T mediante anticuerpos monoclonales anti-CD3 más CD28, y se cultivaron en la presencia del anticuerpo quimérico de enlace de CD45RB/RO o del anticuerpo monoclonal de control anti-LPS. El curso del tiempo de la expresión de CTLA-4 y CD25 revela notorias diferencias entre los controles y las células T tratadas con anticuerpo quimérico de enlace de CD45RB/RO en los días 1 y 3 después del estímulo secundario.

La Expresión Intracelular de CTLA-4 se Sostiene en la Presencia del Anticuerpo Quimérico de Enlace de CD45RB/RO

Se ha reportado que también se pueden encontrar cantidades sustanciales de CTLA-4 intracelularmente. Por consiguiente, en paralelo con el teñido superficial de CTLA-4, se analizó la expresión intracelular de CTLA-4. Se vieron diferencias moderadas entre los cultivos de células T en el día 4 después del estímulo. Sin embargo, después de un cultivo prolongado, se sostuvieron altos niveles de CTLA-4 intracelular solamente en las células T tratadas con anticuerpo quimérico de enlace de CD45RB/RO, pero no en las

células T de control.

Las Células T Tratadas con Anticuerpo Quimérico de Enlace de CD45RB/RO Llegan a Ser Doblemente Positivas para CD4 y CD8

En seguida del estímulo, las células T inducen y
5 aumentan la expresión de varios receptores superficiales,
tales como CD25, CD152 (CTLA-4), CD154 (CD40-Ligando), y
otros. En contraste, se piensa que el nivel de expresión de
CD4 ó CD8 permanece relativamente constante. Observamos de
una manera reproducible un fuerte incremento de ambos
10 antígenos CD4 y CD8 sobre las células T tratadas con
anticuerpo quimérico de enlace de CD45RB/RO, pero no sobre
las células T tratadas con anticuerpo de control después de
la activación. El surgimiento de una población de células T
doblemente positivas para CD4/CD8 parece deberse al aumento
15 del subconjunto CD4 sobre CD8+, e inversamente, del CD8 sobre
el subconjunto CD4+. Esto contrasta con un porcentaje
moderadamente bajo de células T doblemente positivas en los
cultivos de control.

20

**Alta Expresión de la Cadena Alfa del Receptor de IL-2, pero
muy Baja Expresión de la Cadena Beta, Mediante las Células T
Tratadas con Anticuerpo Quimérico de Enlace de CD45RB/RO**

25 Se sabe que las células Treg son constitutivamente

positivas para CD25, la cadena alfa del receptor de IL-2. La regulación de otras subunidades del receptor trimérico de IL-2 sobre las células Treg, no es conocida. Recientemente hemos comparado la expresión de la cadena beta del receptor de IL-2, por ejemplo CD122, sobre las células T activadas y propagadas en la presencia o en ausencia del anticuerpo quimérico de enlace de enlace de CD45RB/RO. Los resultados muestran que las células T tratadas con anticuerpo quimérico de enlace de CD45RB/RO tienen una expresión de CD122 aproximadamente 10 veces más baja, comparándose con las células T de los cultivos de control. Esta diferencia puede indicar que las células Treg requieren de factores diferentes de la IL-2 para proliferarse.

Ejemplo 8: Secuencias de la Invención (Las Secuencias de CDR de la Invención están Subrayadas)

SEQ ID NO:1

Parte de la Secuencia de Aminoácidos de la Cadena Ligera

20 Quimérica

DILLTQSPAILSVPGERVSVFSC^{CDR1}ASQNIGTSIQWYQQRTNGSPRLIRSSSESISGIPSR
FSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQSNTWPFTFGSGTKLEIK

SEQ ID NO:2

Parte de la Secuencia de Aminoácidos de la Cadena Pesada

25 Quimérica

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTNYIIHWVKQEPGQGLEWIGYFNPYNHGTKYN
EKFKGRATLTADKSSNTAYMDLSSLTSEDSAIYYCARSGPYAWFDTWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO:3

5 **Secuencia de Aminoácidos de la Cadena Ligera Quimérica**
DILLTQSPAILSVPGERVSFSCRASQNIGTSIQWYQQRNGSPRLLRSSSESISGIPSR
FSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQSNTWPFTEFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSK
ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

SEQ ID NO:4

Secuencia de Aminoácidos de la Cadena Pesada Quimérica
EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTNYIIHWVKQEPGQGLEWIGYFNPYNHGTKYN
EKFKGRATLTADKSSNTAYMDLSSLTSEDSAIYYCARSGPYAWFDTWGQGTTVTVSSASTK
15 GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS
20 VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:5

Secuencia de Nucleótidos que Codifica un Polipéptido de la
25 **SEQ ID NO:1**

GACATTCTGCTGACCCAGTCTCCAGCCATCCTGTCTGTGAGTCCAGGAGAAAGAGTCAGTT
 TCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAACATTGGCACAAGCATAACAGTGGTATCAACAAAGAACAAA
 TGGTTCTCCAAGGCTTCTCATAAGGTCTTCTTCTGAGTCTATCTCTGGGATCCCTTCCAGG
 TTTAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTACTCTTAGCATCAACAGTGTGGAGTCTGAAG
 5 ATATTGCAGATTATTACTGTCAACAAAGTAATACCTGGCCATTCACGTTCTGGGCTCGGGGAC
 CAAGCTTGAAATCAAA

SEQ ID NO:6

Secuencia de Nucleótidos que Codifica un Polipéptido de la

10 **SEQ ID NO:2**

GAGGTGCAGCTGCAGCAGTCAGGACCTGAACTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGT
 CCTGCAAGGCCTCTGGATACACATTCACTAATTATATTATCCACTGGGTGAAGCAGGAGCC
 TGGTCAGGGCCTTGAATGGATTGGATATTTTAATCCTTACAATCATGGTACTAAGTACAAT
 GAGAAGTTCAAAGGCAGGGCCACACTAACTGCAGACAAATCCTCCAACACAGCCTACATGG
 15 ACCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGATCTACTACTGTGCAAGATCAGGACCCTA
 TGCCTGGTTTGACACCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO:7

Parte de la Secuencia de Aminoácidos de la Cadena Ligera

20 **Humanizada Designada como humV2 (humV2 = VLm)**

DILLTQSPAT LSLSPGERAT FSCRASQNIG TSIQWYQQKT NGAPRLLIRS
SSESISGIPS RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ SNTWPFTFGQ
 GTKLEIK

SEQ ID NO:8

25 **Parte de la Secuencia de Aminoácidos de la Cadena Ligera**

Humanizada Designada como humV1 (humV1 = VLh)

DILLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQNIG TSIQWYQOKP GOAPRLLIRS
SSEISIGIPS RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ SNTWPFTFGQ
GTKLEIK

5

SEQ ID NO:9

**Parte de la Secuencia de Aminoácidos de la Cadena Pesada
Humanizada Designada como VHE**

EVQLVESGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYIIHWVKQE PGQGLEWIGY
10 FNPNHGTKY NEKFKGRATL TANKSISTAY MELSSLRSED TAVYYCARSG
PYAWFDTWGQ GTTVTVSS

SEQ ID NO:10

**Parte de la Secuencia de Aminoácidos de la Cadena Pesada
Humanizada Designada como VHQ**

QVQLVESGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYIIHWVKQE PGQGLEWIGY
15 FNPNHGTKY NEKFKGRATL TANKSISTAY MELSSLRSED TAVYYCARSG
PYAWFDTWGQ GTTVTVSS

20 **SEQ ID NO:11**

**Secuencia de Nucleótidos que Codifica la Secuencia de
Aminoácidos SEQ ID NO:9**

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCAGGAGCCGAAGTGAAAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGGTGT
CCTGCAAGGCCTCTGGATACACATTCACTAATTATATTATCCACTGGGTGAAGCAGGAGCC
25 TGGTCAGGGCCTTGAATGGATTGGATATTTTAATCCTTACAATCATGGTACTAAGTACAAT

GAGAAGTTCAAAGGCAGGGCCACACTAACTGCAAACAAATCCATCAGCACAGCCTACATGG
AGCTCAGCAGCCTGCGCTCTGAGGACACTGCGGTCTACTACTGTGCAAGATCAGGACCCTA
TGCCTGGTTTGACACCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

5 SEQ ID NO:12

**Secuencia de Nucleótidos que Codifica la Secuencia de
Aminoácidos SEQ ID NO:10**

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCAGGAGCCGAAGTGAAAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGGTGT
CCTGCAAGGCCTCTGGATACACATTCACTAATTATATTATCCACTGGGTGAAGCAGGAGCC
10 TGGTCAGGGCCTTGAATGGATTGGATATTTTAATCCTTACAATCATGGTACTAAGTACAAT
GAGAAGTTCAAAGGCAGGGCCACACTAACTGCAAACAAATCCATCAGCACAGCCTACATGG
AGCTCAGCAGCCTGCGCTCTGAGGACACTGCGGTCTACTACTGTGCAAGATCAGGACCCTA
TGCCTGGTTTGACACCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

15 SEQ ID NO:13

**Secuencia de Nucleótidos que Codifica la Secuencia de
Aminoácidos SEQ ID NO:7**

GACATTCTGCTGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTCTGAGTCCAGGAGAAAGAGCCACTT
TCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAACATTGGCACAAGCATAACAGTGGTATCAACAAAAACAAA
20 TGGTGCTCCAAGGCTTCTCATAAGGTCTTCTTCTGAGTCTATCTCTGGGATCCCTTCCAGG
TTTAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTACTCTTACCATCAGCAGTCTGGAGCCTGAAG
ATTTTGCAGTGTATTACTGTCAACAAAGTAATACCTGGCCATTACGTTTCGGCCAGGGGAC
CAAGCTGGAGATCAAA

25 SEQ ID NO:14

Secuencia de Nucleótidos que Codifica la Secuencia de Aminoácidos SEQ ID NO:8

GACATTCTGCTGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTCTGAGTCCAGGAGAAAGAGCCACTC
TCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAACATTGGCACAAGCATAACAGTGGTATCAACAAAAACCAGG
5 TCAGGCTCCAAGGCTTCTCATAAGGTCTTCTTCTGAGTCTATCTCTGGGATCCCTTCCAGG
TTTAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTACTCTTACCATCAGCAGTCTGGAGCCTGAAG
ATTTTGCAGTGTATTACTGTCAACAAAGTAATACCTGGCCATTACGTTTCGGCCAGGGGAC
CAAGCTGGAGATCAAA

10 **SEQ ID NO: 15**

Secuencia de Nucleótidos del Vector de Expresión HCMV-G1 HuAb-VHQ (Secuencia de ADN Completa de un Vector de Expresión de Cadena Pesada Humanizado que Comprende la SEQ ID NO:12 (VHQ) de 3921 a 4274)

15

1 AGCTTTTTTGC AAAAGCCTAG GCCTCCAAAA AAGCCTCCTC ACTACTTCTG
51 GAATAGCTCA GAGGCCGAGG CGGCCTCGGC CTCTGCATAA ATAAAAA
101 TTAGTCAGCC ATGGGGCGGA GAATGGGCGG AACTGGGCGG AGTTAGGGGC
151 GGGATGGGCG GAGTTAGGGG CGGGACTATG GTTGCTGACT AATTGAGATG
20 201 CATGCTTTGC ATACTTCTGC CTGCTGGGGA GCCTGGTTGC TGA
251 AGATGCATGC TTTGCATACT TCTGCCTGCT GGGGAGCCTG GGGACTTTCC
301 ACACCCTAAC TGACACACAT TCCACAGCTG CCTCGCGCGT TTCGGTGATG
351 ACGGTGAAAA CCTCTGACAC ATGCAGCTCC CGGAGACGGT CACAGCTTGT
401 CTGTAAGCGG ATGCCGGGAG CAGACAAGCC CGTCAGGGCG CGTCAGCGGG
25 451 TGTTGGCGGG TGTCGGGGCG CAGCCATGAC CCAGTCACGT AGCGATAGCG

501 GAGTGTATAC TGGCTTAACT ATGCGGCATC AGAGCAGATT GTACTGAGAG
551 TGCACCATAT GCGGTGTGAA ATACCGCACA GATGCGTAAG GAGAAAATAC
601 CGCATCAGGC GCTCTTCCGC TTCCTCGCTC ACTGACTCGC TCGCTCGGT
651 CGTTCGGCTG CGGCGAGCGG TATCAGCTCA CTCAAAGGCG GTAATACGGT
5 701 TATCCACAGA ATCAGGGGAT AACGCAGGAA AGAACATGTG AGCAAAAGGC
751 CAGCAAAAGG CCAGGAACCG TAAAAAGGCC GCGTTGCTGG CGTTTTTCCA
801 TAGGCTCCGC CCCCTGACG AGCATCACAA AAATCGACGC TCAAGTCAGA
851 GGTGGCGAAA CCGACAGGA CTATAAAGAT ACCAGGCGTT TCCCCCTGGA
901 AGCTCCCTCG TCGCTCTCC TGTTCGACC CTGCCGCTTA CCGGATACCT
10 951 GTCCGCCTTT CTCCCTTCGG GAAGCGTGGC GCTTTCTCAT AGCTCACGCT
1001 GTAGGTATCT CAGTTCGGTG TAGGTCGTTT GCTCCAAGCT GGGCTGTGTG
1051 CACGAACCCC CCGTTCAGCC CGACCGCTGC GCCTTATCCG GTAACTATCG
1101 TCTTGAGTCC AACCCGGTAA GACACGACTT ATCGCCACTG GCAGCAGCCA
1151 CTGGTAACAG GATTAGCAGA GCGAGGTATG TAGGCGGTGC TACAGAGTTC
15 1201 TTGAAGTGGT GGCCTAACTA CGGCTACACT AGAAGGACAG TATTTGGTAT
1251 CTGCGCTCTG CTGAAGCCAG TTACCTTCGG AAAAAGAGTT GGTAGCTCTT
1301 GATCCGGCAA ACAAACCACC GCTGGTAGCG GTGGTTTTTT TGTGTGCAAG
1351 CAGCAGATTA CGCGCAGAAA AAAAGGATCT CAAGAAGATC CTTTGATCTT
1401 TTCTACGGGG TCTGACGCTC AGTGAACGA AACTCACGT TAAGGGATTT
20 1451 TGGTCATGAG ATTATCAAAA AGGATCTTCA CCTAGATCCT TTAAATTAA
1501 AAATGAAGTT TTAAATCAAT CTAAAGTATA TATGAGTAAA CTTGGTCTGA
1551 CAGTTACCAA TGCTTAATCA GTGAGGCACC TATCTCAGCG ATCTGTCTAT
1601 TTCGTTCATC CATAGTTGCC TGAATCCCCG TCGTGTAGAT AACTACGATA
1651 CGGGAGGGCT TACCATCTGG CCCAGTGCT GCAATGATAC CGCGAGACCC
25 1701 ACGCTCACCG GCTCCAGATT TATCAGCAAT AAACCAGCCA GCCGGAAGGG

1751 CCGAGCGCAG AAGTGGTCCT GCAACTTTAT CCGCCTCCAT CCAGTCTATT
 1801 AATTGTTGCC GGGAAGCTAG AGTAAGTAGT TCGCCAGTTA ATAGTTTGCG
 1851 CAACGTTGTT GCCATTGCTG CAGGCATCGT GGTGTCACGC TCGTCGTTTG
 1901 GTATGGCTTC ATTCAGCTCC GGTTCCCAAC GATCAAGGCG AGTTACATGA
 5 1951 TCCCCCATGT TGTGCAAAAA AGCGGTTAGC TCCTTCGGTC CTCCGATCGT
 2001 TGTCAGAAGT AAGTTGGCCG CAGTGTTATC ACTCATGGTT ATGGCAGCAC
 2051 TGCATAATTC TCTTACIGTC ATGCCATCCG TAAGATGCTT TTCTGTGACT
 2101 GGTGAGTACT CAACCAAGTC ATTCTGAGAA TAGTGTATGC GGCGACCGAG
 2151 TTGCTCTTGC CCGGCGTCAA CACGGGATAA TACCGCGCCA CATAGCAGAA
 10 2201 CTTTAAAAGT GCTCATCATT GGAAAACGTT CTTCGGGGCG AAAACTCTCA
 2251 AGGATCTTAC CGCTGTTGAG ATCCAGTTCG ATGTAACCCA CTCGTGCACC
 2301 CAACTGATCT TCAGCATCTT TTACTIONTAC CAGCGTTTCT GGGTGAGCAA
 2351 AAACAGGAAG GCAAAAATGCC GCAAAAAAGG GAATAAGGGC GACACGGAAA
 2401 TGTTGAATAC TCATACTCTT CCTTTTTCAA TATTATTGAA GCATTTATCA
 15 2451 GGGTTATTGT CTCATGAGCG GATACATATT TGAATGTATT TAGAAAAATA
 2501 AACAAATAGG GGTTCCGCGC ACATTTCCCC GAAAAGTGCC ACCTGACGTC
 2551 TAAGAAACCA TTATTATCAT GACATTAACC TATAAAAATA GGCGTATCAC
 2601 GAGGCCCTTT CGTCTTCAAG AATTCAGCTT GGCTGCAGTG AATAATAAAA
 2651 TGTGTGTTTG TCCGAAATAC GCGTTTTGAG ATTTCTGTCT CCGACTAAAT
 20 2701 TCATGTCGCG CGATAGTGGT GTTTATCGCC GATAGAGATG GCGATATTGG
 2751 AAAAATCGAT ATTTGAAAAT ATGGCATATT GAAAATGTCT CCGATGTGAG
 2801 TTTCTGTGTA ACTGATATCG CCATTTTTCC AAAAGTGATT TTTGGGCATA
 2851 CGCGATATCT GGCGATAGCG CTTATATCGT TTACGGGGGA TGGCGATAGA
 2901 CGACTTTGGT GACTTGGGCG ATTCTGTGTG TCGCAAATAT CGCAGTTTCG
 25 2951 ATATAGGTGA CAGACGATAT GAGGCTATAT CGCCGATAGA GGCGACATCA

3001 AGCTGGCACA TGGCCAATGC ATATCGATCT ATACATTGAA TCAATATTGG
 3051 CCATTAGCCA TATTATTCAT TGGTTATATA GCATAAATCA ATATTGGCTA
 3101 TTGGCCATTG CACACGTTGT ATCCATATCA TAATATGTAC ATTTATATTG
 3151 GCTCATGTCC AACATTACCG CCATGTTGAC ATTGATTATT GACTAGTTAT
 5 3201 TAATAGTAAT CAATTACGGG GTCATTAGTT CATAGCCCAT ATATGGAGTT
 3251 CCGCGTTACA TAACTTACGG TAAATGGCCC GCCTGGCTGA CCGCCCAACG
 3301 ACCCCCGCCC ATTGACGTCA ATAATGACGT ATGTTCCCAT AGTAACGCCA
 3351 ATAGGGACTT TCCATTGACG TCAATGGGTG GAGTATTTAC GGTAAACTGC
 3401 CCACTTGGCA GTACATCAAG TGTATCATAT GCCAAGTACG CCCCCTATTG
 10 3451 ACGTCAATGA CGGTAAATGG CCCGCCTGGC ATTATGCCCA GTACATGACC
 3501 TTATGGGACT TTCCTACTTG GCAGTACATC TACGTATTAG TCATCGCTAT
 3551 TACCATGGTG ATGCGGTTTT GGCAGTACAT CAATGGGCGT GGATAGCGGT
 3601 TTGACTCACG GGGATTTCCA AGTCTCCACC CCATTGACGT CAATGGGAGT
 3651 TTGTTTTGGC ACCAAAATCA ACGGGACTTT CCAAAATGTC GTAACAACTC
 15 3701 CGCCCCATTG ACGCAAATGG GCGGTAGGCG TGTACGGTGG GAGGTCTATA
 3751 TAAGCAGAGC TCGTTTAGTG AACCGTCAGA TCGCCTGGAG ACGCCATCCA
 3801 CGCTGTTTTG ACCTCCATAG AAGACACCGG GACCGATCCA GCCTCCGCAA
 3851 GCTTGCCGCC ACCATGGACT GGACCTGGAG GGTGTTCTGC CTGCTGGCCG
 3901 TGGCCCCCGG CGCCCACAGC CAGGTGCAGC TGGTGGAGTC AGGAGCCGAA
 20 3951 GTGAAAAAGC CTGGGGCTTC AGTGAAGGTG TCCTGCAAGG CCTCTGGATA
 4001 CACATTCACT AATTATATTA TCCACTGGGT GAAGCAGGAG CCTGGTCAGG
 4051 GCCTTGAATG GATTGGATAT TTTAATCCTT ACAATCATGG TACTAAGTAC
 4101 AATGAGAAGT TCAAAGGCAG GGCCACACTA ACTGCAAACA AATCCATCAG
 4151 CACAGCCTAC ATGGAGCTCA GCAGCCTGCG CTCTGAGGAC ACTGCGGTCT
 25 4201 ACTACTGTGC AAGATCAGGA CCCTATGCCT GGTTTGACAC CTGGGGCCAA

4251 GGGACCACGG TCACCGTCTC CTCAGGTGAG TTCTAGAAGG ATCCCAAGCT
4301 AGCTTTCTGG GGCAGGCCAG GCCTGACCTT GGCTTTGGGG CAGGGAGGGG
4351 GCTAAGGTGA GGCAGGTGGC GCCAGCCAGG TGCACACCCA ATGCCCATGA
4401 GCCCAGACAC TGGACGCTGA ACCTCGCGGA CAGTTAAGAA CCCAGGGGCC
5 4451 TCTGCGCCCT GGGCCCAAGT CTGTCCCACA CCGCGGTCAC ATGGCACCAC
4501 CTCTCTTGCA GCCTCCACCA AGGGCCCATC GGTCTTCCCC CTGGCACCCCT
4551 CCTCCAAGAG CACCTCTGGG GGCACAGCGG CCCTGGGCTG CCTGGTCAAG
4601 GACTACTTCC CCGAACCAGT GACGGTGTCG TGGAACTCAG GCGCCCTGAC
4651 CAGCGGCGTG CACACCTTCC CGGCTGTCCT ACAGTCCTCA GGACTCTACT
10 4701 CCCTCAGCAG CGTGGTGACC GTGCCCTCCA GCAGCTTGGG CACCCAGACC
4751 TACATCTGCA ACGTGAATCA CAAGCCCAGC AACACCAAGG TGGACAAGAA
4801 AGTTGGTGAG AGGCCAGCAC AGGGAGGGAG GGTGTCTGCT GGAAGCCAGG
4851 CTCAGCGCTC CTGCCTGGAC GCATCCCGGC TATGCAGCCC CAGTCCAGGG
4901 CAGCAAGGCA GGCCCCGTCT GCCTCTTCAC CCGGAGGCCT CTGCCCCGCC
15 4951 CACTCATGCT CAGGGAGAGG GTCTTCTGGC TTTTCCCCA GGCTCTGGGC
5001 AGGCACAGGC TAGGTGCCCC TAACCCAGGC CCTGCACACA AAGGGGCAGG
5051 TGCTGGGCTC AGACCTGCCA AGAGCCATAT CCGGGAGGAC CCTGCCCCTG
5101 ACCTAAGCCC ACCCCAAAGG CCAAACCTCT CACTCCCTCA GCTCGGACAC
5151 CTTCTCTCCT CCCAGATTCC AGTAACTCCC AATCTTCTCT CTGCAGAGCC
20 5201 CAAATCTTGT GACAAAACCT ACACATGCCC ACCGTGCCCC GGTAAGCCAG
5251 CCCAGGCCTC GCCCTCCAGC TCAAGGCGGG ACAGGTGCCC TAGAGTAGCC
5301 TGCATCCAGG GACAGGCCCC AGCCGGGTGC TGACACGTCC ACCTCCATCT
5351 CTTCCCTCAGC ACCTGAACTC CTGGGGGGAC CGTCAGTCTT CCTCTTCCCC
5401 CAAAACCCA AGGACACCCT CATGATCTCC CGGACCCCTG AGGTCACATG
25 5451 CGTGGTGGTG GACGTGAGCC ACGAAGACCC TGAGGTCAAG TTCAACTGGT

5501 ACGTGGACGG CGTGGAGGTG CATAATGCCA AGACAAAGCC GCGGGAGGAG
5551 CAGTACAACA GCACGTACCG TGTGGTCAGC GTCCTCACCG TCCTGCACCA
5601 GGACTGGCTG AATGGCAAGG AGTACAAGTG CAAGGTCTCC AACAAAGCCC
5651 TCCCAGCCCC CATCGAGAAA ACCATCTCCA AAGCCAAAGG TGGGACCCGT
5 5701 GGGGTGCGAG GGCCACATGG ACAGAGGCCG GCTCGGCCCA CCCTCTGCCC
5751 TGAGAGTGAC CGCTGTACCA ACCTCTGTCC CTACAGGGCA GCCCCGAGAA
5801 CCACAGGTGT ACACCCTGCC CCCATCCCGG GATGAGCTGA CCAAGAACCA
5851 GGTCAGCCTG ACCTGCCTGG TCAAAGGCTT CTATCCCAGC GACATCGCCG
5901 TGGAGTGGGA GAGCAATGGG CAGCCGGAGA ACAACTACAA GACCACGCCT
10 5951 CCCGTGCTGG ACTCCGACGG CTCCTTCTTC CTCTACAGCA AGCTCACCGT
6001 GGACAAGAGC AGGTGGCAGC AGGGGAACGT CTTCTCATGC TCCGTGATGC
6051 ATGAGGCTCT GCACAACCAC TACACGCAGA AGAGCCTCTC CCTGTCTCCG
6101 GGTAAATGAG TGCGACGGCC GGCAAGCCCC CGCTCCCCGG GCTCTCGCGG
6151 TCGCACGAGG ATGCTTGGCA CGTACCCCTT GTACATACTT CCCGGGCGCC
15 6201 CAGCATGGAA ATAAAGCACC CAGCGCTGCC CTGGGCCCCCT GCGAGACTGT
6251 GATGGTTCTT TCCACGGGTC AGGCCGAGTC TGAGGCCTGA GTGGCATGAG
6301 ATCTGATATC ATCGATGAAT TCGAGCTCGG TACCCGGGGA TCGATCCAGA
6351 CATGATAAGA TACATTGATG AGTTTGGACA AACCACAACT AGAATGCAGT
6401 GAAAAAATG CTTTATTTGT GAAATTTGTG ATGCTATTGC TTTATTTGTA
20 6451 ACCATTATAA GCTGCAATAA ACAAGTTAAC AACAACAATT GCATTCAATTT
6501 TATGTTTCAG GTTCAGGGGG AGGTGTGGGA GGTTTTTTAA AGCAAGTAAA
6551 ACCTCTACAA ATGTGGTATG GCTGATTATG ATCTCTAGTC AAGGCACTAT
6601 ACATCAAATA TTCCTTATTA ACCCCTTTAC AAATTAAAAA GCTAAAGGTA
6651 CACAATTTTT GAGCATAGTT ATTAATAGCA GACACTCTAT GCCTGTGTGG
25 6701 AGTAAGAAAA AACAGTATGT TATGATTATA ACTGTTATGC CTACTTATAA

6751 AGGTTACAGA ATATTTTTC ATAAATTTTCT TGTATAGCAG TGCAGCTTTT
6801 TCCTTTGTGG TGTAAATAGC AAAGCAAGCA AGAGTTCTAT TACTAAACAC
6851 AGCATGACTC AAAAAACTTA GCAATTCTGA AGGAAAGTCC TTGGGGTCTT
6901 CTACCTTTCT CTTCTTTTTT GGAGGAGTAG AATGTTGAGA GTCAGCAGTA
5 6951 GCCTCATCAT CACTAGATGG CATTTCTTCT GAGCAAACA GGTTCCTC
7001 ATTAAAGGCA TTCCACCACT GCTCCCATTC ATCAGTTCCA TAGGTTGGAA
7051 TCTAAAATAC ACAAACAATT AGAATCAGTA GTTTAACACA TTATACACTT
7101 AAAAATTTTA TATTTACCTT AGAGCTTTAA ATCTCTGTAG GTAGTTTGTC
7151 CAATTATGTC ACACCACAGA AGTAAGGTTT CTCACAAAG ATCCGGGACC
10 7201 AAAGCGGCCA TCGTGCCTCC CCACTCCTGC AGTTCGGGGG CATGGATGCG
7251 CGGATAGCCG CTGCTGGTTT CCTGGATGCC GACGGATTG CACTGCCGGT
7301 AGAACTCCGC GAGGTCGTCC AGCCTCAGGC AGCAGCTGAA CCAACTCGCG
7351 AGGGGATCGA GCCCGGGGTG GGCGAAGAAC TCCAGCATGA GATCCCCGCG
7401 CTGGAGGATC ATCCAGCCGG CGTCCCGGAA AACGATTCCG AAGCCCAACC
15 7451 TTTCATAGAA GGCGGCGGTG GAATCGAAAT CTCGTGATGG CAGGTTGGGC
7501 GTCGCTTGGT CGGTCATTTT GAACCCAGAG GTCCCGCTCA GAAGAACTCG
7551 TCAAGAAGGC GATAGAAGGC GATGCGCTGC GAATCGGGAG CGGCGATACC
7601 GTAAAGCACG AGGAAGCGGT CAGCCCATTG GCCGCCAAGC TCTTCAGCAA
7651 TATCACGGGT AGCCAACGCT ATGTCCTGAT AGCGGTCCGC CACACCCAGC
20 7701 CGGCCACAGT CGATGAATCC AGAAAAGCGG CCATTTTCCA CCATGATATT
7751 CGGCAAGCAG GCATCGCCAT GGGTCACGAC GAGATCCTCG CCGTCGGGCA
7801 TGCGCGCCTT GAGCCTGGCG AACAGTTCTG CTGGCGCGAG CCCCTGATGC
7851 TCTTCGTCCA GATCATCCTG ATCGACAAGA CCGGCTTCCA TCCGAGTACG
7901 TGCTCGCTCG ATGCGATGTT TCGCTTGGTG GTCGAATGGG CAGGTAGCCG
25 7951 GATCAAGCGT ATGCAGCCGC CGCATTGCAT CAGCCATGAT GGATACTTTC

8001 TCGGCAGGAG CAAGGTGAGA TGACAGGAGA TCCTGCCCCG GCACTTCGCC
8051 CAATAGCAGC CAGTCCCTTC CCGCTTCAGT GACAACGTCG AGCACAGCTG
8101 CGCAAGGAAC GCCCGTCGTG GCCAGCCACG ATAGCCGCGC TGCCTCGTCC
8151 TGCAGTTCAT TCAGGGCACC GGACAGGTCG GTCTTGACAA AAAGAACCGG
5 8201 GCGCCCCTGC GCTGACAGCC GGAACACGGC GGCATCAGAG CAGCCGATTG
8251 TCTGTTGTGC CCAGTCATAG CCGAATAGCC TCTCCACCCA AGCGGCCGGA
8301 GAACCTGCGT GCAATCCATC TTGTTCAATC ATGCGAAACG ATCCTCATCC
8351 TGTCTCTTGA TCAGATCTTG ATCCCCTGCG CCATCAGATC CTTGGCGGCA
8401 AGAAAGCCAT CCAGTTTACT TTGCAGGGCT TCCCAACCTT ACCAGAGGGC
10 8451 GCCCCAGCTG GCAATTCCGG TTCGCTTGCT GTCCATAAAA CCGCCCAGTC
8501 TAGCTATCGC CATGTAAGCC CACTGCAAGC TACCTGCTTT CTCTTTGCGC
8551 TTGCGTTTTT CTTGTCCAG ATAGCCCAGT AGCTGACATT CATCCGGGGT
8601 CAGCACCGTT TCTGCGGACT GGCTTTCTAC GTGTTCCGCT TCCTTTAGCA
8651 GCCCTTGCGC CCTGAGTGCT TGCGGCAGCG TGAAGCT

15

SEQ ID NO:16

**Secuencia de Nucleótidos del Vector de Expresión HCMV-G1
HuAb-VHE (Secuencia de ADN Completa de un Vector de Expresión
de Cadena Pesada Humanizado que Comprende la SEQ ID NO:11**

20 **(VHE) de 3921-4274)**

1 AGCTTTTTGC AAAAGCCTAG GCCTCCAAAA AAGCCTCCTC ACTACTTCTG
51 GAATAGCTCA GAGGCCGAGG CGGCCTCGGC CTCTGCATAA ATAAAAAAA
101 TTAGTCAGCC ATGGGGCGGA GAATGGGCGG AACTGGGCGG AGTTAGGGGC
151 GGGATGGGCG GAGTTAGGGG CGGGACTATG GTTGCTGACT AATTGAGATG
25 201 CATGCTTTGC ATACTICTGC CTGCTGGGGA GCCTGGTTGC TGAATAATTG

251 AGATGCATGC TTTGCATACT TCTGCCTGCT GGGGAGCCTG GGGACTTTCC
 301 ACACCCTAAC TGACACACAT TCCACAGCTG CCTCGCGCGT TTCGGTGATG
 351 ACGGTGAAAA CCTCTGACAC ATGCAGCTCC CGGAGACGGT CACAGCTTGT
 401 CTGTAAGCGG ATGCCGGGAG CAGACAAGCC CGTCAGGGCG CGTCAGCGGG
 5 451 TGTTGGCGGG TGTCGGGGCG CAGCCATGAC CCAGTCACGT AGCGATAGCG
 501 GAGTGTATAC TGGCTTAACT ATGCGGCATC AGAGCAGATT GTACTGAGAG
 551 TGCACCATAT GCGGTGTGAA ATACCGCACA GATGCGTAAG GAGAAAATAC
 601 CGCATCAGGC GCTCTTCCGC TTCCTCGCTC ACTGACTCGC TCGCTCGGT
 651 CGTTCGGCTG CGGCGAGCGG TATCAGCTCA CTCAAAGGCG GTAATACGGT
 10 701 TATCCACAGA ATCAGGGGAT AACGCAGGAA AGAACATGTG AGCAAAAGGC
 751 CAGCAAAAGG CCAGGAACCG TAAAAAGGCC GCGTTGCTGG CGTTTTTCCA
 801 TAGGCTCCGC CCCCTGACG AGCATCACAA AAATCGACGC TCAAGTCAGA
 851 GGTGGCGAAA CCCGACAGGA CTATAAAGAT ACCAGGCGTT TCCCCCTGGA
 901 AGCTCCCTCG TCGCTCTCC TGTTCCGACC CTGCCGCTTA CCGGATACCT
 15 951 GTCCGCCTTT CTCCCTICGG GAAGCGTGGC GCTTTCTCAT AGCTCACGCT
 1001 GTAGGTATCT CAGTTCGGTG TAGGTCGTTT GCTCCAAGCT GGGCTGTGTG
 1051 CACGAACCCC CCGTTCAGCC CGACCGCTGC GCCTTATCCG GTAACATATCG
 1101 TCTTGAGTCC AACCCGGTAA GACACGACTT ATCGCCACTG GCAGCAGCCA
 1151 CTGGTAACAG GATTAGCAGA GCGAGGTATG TAGGCGGTGC TACAGAGTTC
 20 1201 TTGAAGTGGT GGCCTAACTA CGGCTACACT AGAAGGACAG TATTTGGTAT
 1251 CTGCGCTCTG CTGAAGCCAG TTACCTTCGG AAAAAGAGTT GGTAGCTCTT
 1301 GATCCGGCAA ACAAACCACC GCTGGTAGCG GTGGTTTTTT TGTTTGCAAG
 1351 CAGCAGATTA CGCGCAGAAA AAAAGGATCT CAAGAAGATC CTTTGATCTT
 1401 TTCTACGGGG TCTGACGCTC AGTGGAACGA AACTCACGT TAAGGGATTT
 25 1451 TGGTCATGAG ATTATCAAAA AGGATCTTCA CCTAGATCCT TTAAATTAA

1501 AAATGAAGTT TTAAATCAAT CTAAAGTATA TATGAGTAAA CTTGGTCTGA
 1551 CAGTTACCAA TGCTTAATCA GTGAGGCACC TATCTCAGCG ATCTGTCTAT
 1601 TTCGTTTCATC CATAGTTGCC TGACTIONCCG TCGTG TAGAT AACTACGATA
 1651 CGGGAGGGCT TACCATCTGG CCCCAGTGCT GCAATGATAC CGCGAGACCC
 5 1701 ACGCTCACCG GCTCCAGATT TATCAGCAAT AAACCAGCCA GCCGGAAGGG
 1751 CCGAGCGCAG AAGTGGTCCT GCAACTTTAT CCGCCTCCAT CCAGTCTATT
 1801 AATTGTTGCC GGGAAGCTAG AGTAAGTAGT TCGCCAGTTA ATAGTTTGCG
 1851 CAACGTTGTT GCCATTGCTG CAGGCATCGT GGTGTCACGC TCGTCGTTTG
 1901 GTATGGCTTC ATTCAGCTCC GGTTCCTAAC GATCAAGGCG AGTTACATGA
 10 1951 TCCCCCATGT TGTGCAAAAA AGCGGTTAGC TCCTTCGGTC CTCCGATCGT
 2001 TGTCAGAAGT AAGTTGGCCG CAGTGTTATC ACTCATGGTT ATGGCAGCAC
 2051 TGCATAATTC TCTTACTGTC ATGCCATCCG TAAGATGCTT TTCTGTGACT
 2101 GGTGAGTACT CAACCAAGTC ATTCTGAGAA TAGTGTATGC GGCGACCGAG
 2151 TTGCTCTTGC CCGGCGTCAA CACGGGATAA TACCGCGCCA CATAGCAGAA
 15 2201 CTTTAAAAGT GCTCATCATT GGAAAACGTT CTTCGGGGCG AAAACTCTCA
 2251 AGGATCTTAC CGCTGTTGAG ATCCAGTTCG ATGTAACCCA CTCGTGCACC
 2301 CAACTGATCT TCAGCATCTT TTTACTTTCAC CAGCGTTTCT GGGTGAGCAA
 2351 AAACAGGAAG GCAAAATGCC GCAAAAAAGG GAATAAGGGC GACACGGAAA
 2401 TGTTGAATAC TCATACTCTT CCTTTTTCAA TATTATTGAA GCATTTATCA
 20 2451 GGGTTATTGT CTCATGAGCG GATACATATT TGAATGTATT TAGAAAAATA
 2501 AACAAATAGG GGTTCCGCGC ACATTTCCCC GAAAAGTGCC ACCTGACGTC
 2551 TAAGAAACCA TTATTATCAT GACATTAACC TATAAAAATA GCGGTATCAC
 2601 GAGGCCCTTT CGTCTTCAAG AATTCAGCTT GGCTGCAGTG AATAATAAAA
 2651 TGTGTGTTTG TCCGAAATAC GCGTTTTGAG ATTTCTGTCT CCGACTAAAT
 25 2701 TCATGTCGCG CGATAGTGGT GTTTATCGCC GATAGAGATG GCGATATTGG

2751 AAAAATCGAT ATTTGAAAAT ATGGCATATT GAAAATGTCT CCGATGTGAG
 2801 TTTCTGTGTA ACTGATATCG CCATTTTTC AAAAGTGATT TTTGGGCATA
 2851 CGCGATATCT GGCGATAGCG CTTATATCGT TTACGGGGGA TGGCGATAGA
 2901 CGACTTTGGT GACTTGGGCG ATTCTGTGTG TCGCAAATAT CGCAGTTTCG
 5 2951 ATATAGGTGA CAGACGATAT GAGGCTATAT CGCCGATAGA GGCGACATCA
 3001 AGCTGGCACA TGGCCAATGC ATATCGATCT ATACATTGAA TCAATATTGG
 3051 CCATTAGCCA TATTATTCAT TGGTTATATA GCATAAATCA ATATTGGCTA
 3101 TTGGCCATTG CACACGTTGT ATCCATATCA TAATATGTAC ATTTATATTG
 3151 GCTCATGTCC AACATTACCG CCATGTTGAC ATTGATTATT GACTAGTTAT
 10 3201 TAATAGTAAT CAATTACGGG GTCATTAGTT CATAGCCCAT ATATGGAGTT
 3251 CCGCGTTACA TAACTTACGG TAAATGGCCC GCCTGGCTGA CCGCCCAACG
 3301 ACCCCCGCCC ATTGACGTCATA ATAATGACGT ATGTTCCCAT AGTAACGCCA
 3351 ATAGGGACTT TCCATTGACG TCAATGGGTG GAGTATTTAC GGTAAGCTGC
 3401 CCACTTGGCA GTACATCAAG TGTATCATAT GCCAAGTACG CCCCTATTG
 15 3451 ACGTCAATGA CGGTAAATGG CCCGCCTGGC ATTATGCCCA GTACATGACC
 3501 TTATGGGACT TTCCTACTTG GCAGTACATC TACGTATTAG TCATCGCTAT
 3551 TACCATGGTG ATGCGGTTTT GGCAGTACAT CAATGGGCGT GGATAGCGGT
 3601 TTGACTCACG GGGATTTCCA AGTCTCCACC CCATTGACGT CAATGGGAGT
 3651 TTGTTTTTGGC ACCAAAATCA ACGGGACTTT CCAAAATGTC GTAACAACCTC
 20 3701 CGCCCCATTG ACGCAAATGG GCGGTAGGCG TGTACGGTGG GAGGTCTATA
 3751 TAAGCAGAGC TCGTTTAGTG AACCGTCAGA TCGCCTGGAG ACGCCATCCA
 3801 CGCTGTTTTG ACCTCCATAG AAGACACCGG GACCGATCCA GCCTCCGCAA
 3851 GCTTGCCGCC ACCATGGACT GGACCTGGAG GGTGTTCTGC CTGCTGGCCG
 3901 TGGCCCCCGG CGCCCACAGC GAGGTGCAGC TGGTGGAGTC AGGAGCCGAA
 25 3951 GTGAAAAAGC CTGGGGCTTC AGTGAAGGTG TCCTGCAAGG CCTCTGGATA

4001 CACATTCACT AATTATATTA TCCACTGGGT GAAGCAGGAG CCTGGTCAGG
 4051 GCCTTGAATG GATTGGATAT TTTAATCCTT ACAATCATGG TACTAAGTAC
 4101 AATGAGAAGT TCAAAGGCAG GGCCACACTA ACTGCAAACA AATCCATCAG
 4151 CACAGCCTAC ATGGAGCTCA GCAGCCTGCG CTCTGAGGAC ACTGCGGTCT
 5 4201 ACTACTGTGC AAGATCAGGA CCCTATGCCT GGT TTGACAC CTGGGGCCAA
 4251 GGGACCACGG TCACCGTCTC CTCAGGTGAG TTCTAGAAGG ATCCCAAGCT
 4301 AGCTTTCTGG GGCAGGCCAG GCCTGACCTT GGCTTTGGGG CAGGGAGGGG
 4351 GCTAAGGTGA GGCAGGTGGC GCCAGCCAGG TGCACACCCA ATGCCCATGA
 4401 GCCCAGACAC TGGACGCTGA ACCTCGCGGA CAGTTAAGAA CCCAGGGGCC
 10 4451 TCTGCGCCCT GGGCCCAGCT CTGTCCCACA CCGCGGTCAC ATGGCACCAC
 4501 CTCTCTTGCA GCCTCCACCA AGGGCCCATC GGTCTTCCCC CTGGCACCCT
 4551 CCTCCAAGAG CACCTCTGGG GGCACAGCGG CCCTGGGCTG CCTGGTCAAG
 4601 GACTACTTCC CCGAACCGGT GACGGTGTCG TGGAACTCAG GCGCCCTGAC
 4651 CAGCGGCGTG CACACCTTCC CGGCTGTCCT ACAGTCCTCA GGACTCTACT
 15 4701 CCCTCAGCAG CGTGGTGACC GTGCCCTCCA GCAGCTTGGG CACCCAGACC
 4751 TACATCTGCA ACGTGAATCA CAAGCCCAGC AACACCAAGG TGGACAAGAA
 4801 AGTTGGTGAG AGGCCAGCAC AGGGAGGGAG GGTGTCTGCT GGAAGCCAGG
 4851 CTCAGCGCTC CTGCCTGGAC GCATCCCGGC TATGCAGCCC CAGTCCAGGG
 4901 CAGCAAGGCA GGCCCCGTCT GCCTCTTCAC CCGGAGGCCT CTGCCCCGCC
 20 4951 CACTCATGCT CAGGGAGAGG GTCTTCTGGC TTTTCCCCA GGCTCTGGGC
 5001 AGGCACAGGC TAGGTGCCCC TAACCCAGGC CCTGCACACA AAGGGGCAGG
 5051 TGCTGGGCTC AGACCTGCCA AGAGCCATAT CCGGGAGGAC CCTGCCCTG
 5101 ACCTAAGCCC ACCCCAAAGG CCAAACCTCT CACTCCCTCA GCTCGGACAC
 5151 CTTCTCTCCT CCCAGATTCC AGTAACTCCC AATCTTCTCT CTGCAGAGCC
 25 5201 CAAATCTTGT GACAAAACCTC ACACATGCCC ACCGTGCCCA GGTAAGCCAG

5251 CCCAGGCCTC GCCCTCCAGC TCAAGGCGGG ACAGGTGCCC TAGAGTAGCC
5301 TGCATCCAGG GACAGGCCCC AGCCGGGTGC TGACACGTCC ACCTCCATCT
5351 CTTCCCTCAGC ACCTGAACTC CTGGGGGGAC CGTCAGTCTT CCTCTTCCCC
5401 CCAAAACCCA AGGACACCCT CATGATCTCC CGGACCCCTG AGGTCACATG
5 5451 CGTGGTGGTG GACGTGAGCC ACGAAGACCC TGAGGTCAAG TTCAACTGGT
5501 ACGTGGACGG CGTGGAGGTG CATAATGCCA AGACAAAGCC GCGGGAGGAG
5551 CAGTACAACA GCACGTACCG TGTGGTCAGC GTCCTCACCG TCCTGCACCA
5601 GGA CTGGCTG AATGGCAAGG AGTACAAGTG CAAGGTCTCC AACAAAGCCC
5651 TCCCAGCCCC CATCGAGAAA ACCATCTCCA AAGCCAAAGG TGGGACCCGT
10 5701 GGGGTGCGAG GGCCACATGG ACAGAGGCCG GCTCGGCCCA CCCTCTGCCC
5751 TGAGAGTGAC CGCTGTACCA ACCTCTGTCC CTACAGGGCA GCCCCGAGAA
5801 CCACAGGTGT ACACCCTGCC CCCATCCCGG GATGAGCTGA CCAAGAACCA
5851 GGTCAGCCTG ACCTGCCTGG TCAAAGGCTT CTATCCCAGC GACATCGCCG
5901 TGGAGTGGGA GAGCAATGGG CAGCCGGAGA ACAACTACAA GACCACGCCT
15 5951 CCCGTGCTGG ACTCCGACGG CTCCTTCTTC CTCTACAGCA AGCTCACCGT
6001 GGACAAGAGC AGGTGGCAGC AGGGGAACGT CTTCTCATGC TCCGTGATGC
6051 ATGAGGCTCT GCACAACCAC TACACGCAGA AGAGCCTCTC CCTGTCTCCG
6101 GGTAAATGAG TGCGACGGCC GGCAAGCCCC CGCTCCCCGG GCTCTCGCGG
6151 TCGCACGAGG ATGCTTGGCA CGTACCCCTT GTACATACTT CCCGGGCGCC
20 6201 CAGCATGGAA ATAAAGCACC CAGCGCTGCC CTGGGCCCTT GCGAGACTGT
6251 GATGGTTCTT TCCACGGGTC AGGCCGAGTC TGAGGCCTGA GTGGCATGAG
6301 ATCTGATATC ATCGATGAAT TCGAGCTCGG TACCCGGGGA TCGATCCAGA
6351 CATGATAAGA TACATTGATG AGTTTGGACA AACCACAACT AGAATGCAGT
6401 GAAAAAATG CTTTATTTGT GAAATTTGTG ATGCTATTGC TTTATTTGTA
25 6451 ACCATTATAA GCTGCAATAA ACAAGTTAAC AACAACAATT GCATTCAATT

6501 TATGTTTCAG GTTCAGGGGG AGGTGTGGGA GGTTTTTTAA AGCAAGTAAA
6551 ACCTCTACAA ATGTGGTATG GCTGATTATG ATCTCTAGTC AAGGCACTAT
6601 ACATCAAATA TTCCTTATTA ACCCCTTTAC AAATTAAAAA GCTAAAGGTA
6651 CACAATTTTT GAGCATAGTT ATTAATAGCA GACACTCTAT GCCTGTGTGG
5 6701 AGTAAGAAAA AACAGTATGT TATGATTATA ACTGTTATGC CTACTTATAA
6751 AGGTTACAGA ATATTTTTCC ATAATTTTCT TGTATAGCAG TGCAGCTTTT
6801 TCCTTTGTGG TGTAAATAGC AAAGCAAGCA AGAGTTCTAT TACTAAACAC
6851 AGCATGACTC AAAAACTTA GCAATTCTGA AGGAAAGTCC TTGGGGTCTT
6901 CTACCTTTCT CTTCTTTTTT GGAGGAGTAG AATGTTGAGA GTCAGCAGTA
10 6951 GCCTCATCAT CACTAGATGG CATTTCTTCT GAGCAAAACA GGTTTTCCCTC
7001 ATTAAAGGCA TTCCACCACT GCTCCCATTC ATCAGTTCCA TAGGTTGGAA
7051 TCTAAAATAC ACAAACAATT AGAATCAGTA GTTTAACACA TTATACACTT
7101 AAAAATTTTA TATTTACCTT AGAGCTTTAA ATCTCTGTAG GTAGTTTGTC
7151 CAATTATGTC ACACCACAGA AGTAAGGTTT CTCACAAAG ATCCGGGACC
15 7201 AAAGCGGCCA TCGTGCCTCC CCACTCCTGC AGTTCGGGGG CATGGATGCG
7251 CGGATAGCCG CTGCTGGTTT CCTGGATGCC GACGGATTTG CACTGCCGGT
7301 AGAACTCCGC GAGGTCGTCC AGCCTCAGGC AGCAGCTGAA CCAACTCGCG
7351 AGGGGATCGA GCCCGGGGTG GCGAAGAAC TCCAGCATGA GATCCCCGCG
7401 CTGGAGGATC ATCCAGCCGG CGTCCCGGAA AACGATTCCG AAGCCCAACC
20 7451 TTTCATAGAA GCGGCGSGTG GAATCGAAAT CTCGTGATGG CAGGTTGGGC
7501 GTCGCTTGGT CGGTCATTTT GAACCCCAAG GTCCCGCTCA GAAGAACTCG
7551 TCAAGAAGGC GATAGAAGGC GATGCGCTGC GAATCGGGAG CGGCGATACC
7601 GTAAAGCACG AGGAAGCGGT CAGCCCATTG GCCGCCAAGC TCTTCAGCAA
7651 TATCACGGGT AGCCAACGCT ATGTCCTGAT AGCGGTCCGC CACACCCAGC
25 7701 CGGCCACAGT CGATGAATCC AGAAAAGCGG CCATTTTCCA CCATGATATT

7751 CGGCAAGCAG GCATCGCCAT GGGTCACGAC GAGATCCTCG CCGTCGGGCA
 7801 TGCGCGCCTT GAGCCTGGCG AACAGTTCGG CTGGCGCGAG CCCCTGATGC
 7851 TCTTCGTCCA GATCATCCTG ATCGACAAGA CCGGCTTCCA TCCGAGTACG
 7901 TGCTCGCTCG ATGCGATGTT TCGCTTGGTG GTCGAATGGG CAGGTAGCCG
 5 7951 GATCAAGCGT ATGCAGCCGC CGCATTGCAT CAGCCATGAT GGATACTTTC
 8001 TCGGCAGGAG CAAGGTGAGA TGACAGGAGA TCCTGCCCCG GCACTTCGCC
 8051 CAATAGCAGC CAGTCCCTTC CCGCTTCAGT GACAACGTCG AGCACAGCTG
 8101 CGCAAGGAAC GCCCGTCGTG GCCAGCCACG ATAGCCGCGC TGCCTCGTCC
 8151 TGCAGTTCAT TCAGGGCACC GGACAGGTCG GTCTTGACAA AAAGAACCGG
 10 8201 GCGCCCCTGC GCTGACAGCC GGAACACGGC GGCATCAGAG CAGCCGATTG
 8251 TCTGTTGTGC CCAGTCATAG CCGAATAGCC TCTCCACCCA AGCGGCCGGA
 8301 GAACCTGCGT GCAATCCATC TTGTTCAATC ATGCGAAACG ATCCTCATCC
 8351 TGTCTCTTGA TCAGATCTTG ATCCCCTGCG CCATCAGATC CTTGGCGGCA
 8401 AGAAAGCCAT CCAGTTTACT TTGCAGGGCT TCCCAACCTT ACCAGAGGGC
 15 8451 GCCCCAGCTG GCAATTCCGG TTCGCTTGCT GTCCATAAAA CCGCCCAGTC
 8501 TAGCTATCGC CATGTAAGCC CACTGCAAGC TACCTGCTTT CTCTTTGCGC
 8551 TTGCGTTTTTC CTTGTCCAG ATAGCCCAGT AGCTGACATT CATCCGGGGT
 8601 CAGCACCGTT TCTGCGGACT GGCTTTCTAC GTGTTCCGCT TCCTTTAGCA
 8651 GCCCTTGCGC CCTGAGTGCT TGCGGCAGCG TGAAGCT

20

SEQ ID NO:17

Secuencia de Nucleótidos del Vector de Expresión HCMV-K HuAb-
VL1 hum V1 (Secuencia de ADN Completa de un Vector de
Expresión de Cadena Ligera Humanizado que Comprende la SEQ ID

25 NO: 14 (humV1=VLh) de 3964-4284)

1 CTAGCTTTTT GCAAAAGCCT AGGCCTCCAA AAAAGCCTCC TCACTACTTC
 51 TGGAATAGCT CAGAGGCCGA GGCGGCCTCG GCCTCTGCAT AAATAAAAAA
 101 AATTAGTCAG CCATGGGGCG GAGAATGGGC GGAAGTGGGC GGAGTTAGGG
 151 GCGGGATGGG CGGAGTTAGG GGCGGGACTA TGGTTGCTGA CTAATTGAGA
 5 201 TGCATGCTTT GCATACTTCT GCCTGCTGGG GAGCCTGGTT GCTGACTAAT
 251 TGAGATGCAT GCTTTGCATA CTTCTGCCTG CTGGGGAGCC TGGGGACTTT
 301 CCACACCCTA ACTGACACAC ATTCCACAGC TGCCTCGCGC GTTTCGGTGA
 351 TGACGGTGAA AACCTCTGAC ACATGCAGCT CCCGGAGACG GTCACAGCTT
 401 GTCTGTAAGC GGATGCCGGG AGCAGACAAG CCCGTCAGGG CGCGTCAGCG
 10 451 GGTGTTGGCG GGTGTCGGGG CGCAGCCATG ACCCAGTCAC GTAGCGATAG
 501 CGGAGTGTAT ACTGGCITAA CTATGCGGCA TCAGAGCAGA TTGTACTGAG
 551 AGTGCACCAT ATGCGGTGTG AAATACCGCA CAGATGCGTA AGGAGAAAAT
 601 ACCGCATCAG GCGCTCTTCC GCTTCCTCGC TCACTGACTC GCTGCGCTCG
 651 GTCGTTCCGC TCGGGCGAGC GGTATCAGCT CACTCAAAGG CGGTAATACG
 15 701 GTTATCCACA GAATCAGGGG ATAACGCAGG AAAGAACATG TGAGCAAAAG
 751 GCCAGCAAAA GGCCAGGAAC CGTAAAAAGG CCGCGTTGCT GGCCTTTTTTC
 801 CATAGGCTCC GCCCCCTGA CGAGCATCAC AAAAATCGAC GCTCAAGTCA
 851 GAGGTGGCGA AACCCGACAG GACTATAAAG ATACCAGGCG TTTCCCCCTG
 901 GAAGCTCCCT CGTGCGCTCT CCTGTTCCGA CCCTGCCGCT TACCGGATAC
 20 951 CTGTCCGCCT TTCTCCCTTC GGGAAGCGTG GCGCTTTCTC ATAGCTCAGC
 1001 CTGTAGGTAT CTCAGTTCGG TGTAGGTCGT TCGCTCCAAG CTGGGCTGTG
 1051 TGCACGAACC CCCCGTTCAG CCCGACCGCT GCGCCTTATC CGGTAAGTAT
 1101 CGTCTTGAGT CCAACCCGGT AAGACACGAC TTATCGCCAC TGGCAGCAGC
 1151 CACTGGTAAC AGGATTAGCA GAGCGAGGTA TGTAGGCGGT GCTACAGAGT
 25 1201 TCTTGAAGTG GTGGCCTAAC TACGGCTACA CTAGAAGGAC AGTATTTGGT

1251 ATCTGCGCTC TGCTGAAGCC AGTTACCTTC GGAAAAAGAG TTGGTAGCTC
1301 TTGATCCGGC AAACAAACCA CCGCTGGTAG CCGTGGTTTT TTTGTTTGCA
1351 AGCAGCAGAT TACGCGCAGA AAAAAAGGAT CTCAAGAAGA TCCTTTGATC
1401 TTTTCTACGG GGTCTGACGC TCAGTGGAAC GAAAACTCAC GTTAAGGGAT
5 1451 TTTGGTCATG AGATTATCAA AAAGGATCTT CACCTAGATC CTTTTAAATT
1501 AAAAATGAAG TTTTAAATCA ATCTAAAGTA TATATGAGTA AACTTGGTCT
1551 GACAGTTACC AATGCTTAAT CAGTGAGGCA CCTATCTCAG CGATCTGTCT
1601 ATTTTCGTTCA TCCATAGTTG CCTGACTCCC CGTCGTGTAG ATAACTACGA
1651 TACGGGAGGG CTTACCATCT GGCCCCAGTG CTGCAATGAT ACCGCGAGAC
10 1701 CCACGCTCAC CGGCTCCAGA TTTATCAGCA ATAAACCAGC CAGCCGGAAG
1751 GGCCGAGCGC AGAAGTGGTC CTGCAACTTT ATCCGCCTCC ATCCAGTCTA
1801 TTAATTGTTG CCGGGAAGCT AGAGTAAGTA GTTCGCCAGT TAATAGTTTG
1851 CGCAACGTTG TTGCCATTGC TGCAGGCATC GTGGTGTAC GCTCGTCGTT
1901 TGGTATGGCT TCATTCAGCT CCGGTTCCCA ACGATCAAGG CGAGTTACAT
15 1951 GATCCCCCAT GTTGTGCAAA AAAGCGGTTA GCTCCTTCGG TCCTCCGATC
2001 GTTGTGAGAA GTAAGTTGGC CGCAGTGTTA TCACTCATGG TTATGGCAGC
2051 ACTGCATAAT TCTCTTACTG TCATGCCATC CGTAAGATGC TTTTCTGTGA
2101 CTGGTGAGTA CTCAACCAAG TCATTCTGAG AATAGTGTAT GCGGCGACCG
2151 AGTTGCTCTT GCCCGGCGTC AACACGGGAT AATACCGCGC CACATAGCAG
20 2201 AACTTTAAAA GTGCTCATCA TTGGAAAACG TTCTTCGGGG CGAAAACTCT
2251 CAAGGATCTT ACCGCTGTTG AGATCCAGTT CGATGTAACC CACTCGTGCA
2301 CCCAACTGAT CTTCAGCATC TTTTACTTTC ACCAGCGTTT CTGGGTGAGC
2351 AAAAACAGGA AGGCAAAATG CCGCAAAAAA GGAATAAGG GCGACACGGA
2401 AATGTTGAAT ACTCATACTC TTCCTTTTTC AATATTATTG AAGCATTAT
25 2451 CAGGGTTATT GTCTCATGAG CGGATACATA TTTGAATGTA TTTAGAAAAA

2501 TAAACAAATA GGGGTTCGCG GCACATTTCC CCGAAAAGTG CCACCTGACG
2551 TCTAAGAAAC CATTATTATC ATGACATTAA CCTATAAAAA TAGGCGTATC
2601 ACGAGGCCCT TTCGTCTTCA AGAATTCAGC TTGGCTGCAG TGAATAATAA
2651 AATGTGTGTT TGTCCGAAAT ACGCGTTTTG AGATTTCTGT CGCCGACTAA
5 2701 ATTCATGTCTG CGCGATAGTG GTGTTTATCG CCGATAGAGA TGGCGATATT
2751 GGAAAAATCG ATATTTGAAA ATATGGCATA TTGAAAATGT CGCCGATGTG
2801 AGTTTCTGTG TAACTGATAT CGCCATTTTT CCAAAAGTGA TTTTGGGCA
2851 TACGCGATAT CTGGCGATAG CGCTTATATC GTTTACGGGG GATGGCGATA
2901 GACGACTTTG GTGACTTGGG CGATTCTGTG TGTCGCAAAT ATCGCAGTTT
10 2951 CGATATAGGT GACAGACGAT ATGAGGCTAT ATCGCCGATA GAGGCGACAT
3001 CAAGCTGGCA CATGGCCAAT GCATATCGAT CTATACATTG AATCAATATT
3051 GGCCATTAGC CATATTATTC ATTGGTTATA TAGCATAAAT CAATATTGGC
3101 TATTGGCCAT TGCATACGTT GTATCCATAT CATAATATGT ACATTTATAT
3151 TGGCTCATGT CCAACATTAC CGCCATGTTG ACATTGATTA TTGACTAGTT
15 3201 ATTAATAGTA ATCAATTACG GGGTCATTAG TTCATAGCCC ATATATGGAG
3251 TTCCGCGTTA CATAACTTAC GGTAATGGC CCGCCTGGCT GACCGCCCAA
3301 CGACCCCCGC CCATTGACGT CAATAATGAC GTATGTTCCC ATAGTAACGC
3351 CAATAGGGAC TTTCCATTGA CGTCAATGGG TGGAGTATTT ACGGTAAACT
3401 GCCCACTTGG CAGTACATCA AGTGTATCAT ATGCCAAGTA CGCCCCCTAT
20 3451 TGACGTCAAT GACGGTAAAT GGCCCGCCTG GCATTATGCC CAGTACATGA
3501 CCTTATGGGA CTTTCCTACT TGGCAGTACA TCTACGTATT AGTCATCGCT
3551 ATTACCATGG TGATGCGGTT TTGGCAGTAC ATCAATGGGC GTGGATAGCG
3601 GTTTGACTCA CGGGGATTTC CAAGTCTCCA CCCCATTGAC GTCAATGGGA
3651 GTTTGTTTTG GCACCAAAT CAACGGGACT TTCCAAAATG TCGTAACAAC
25 3701 TCCGCCCCAT TGACGCAAAT GGGCGGTAGG CGTGTACGGT GGGAGGTCTA

3751 TATAAGCAGA GCTCGTTTAG TGAACCGTCA GATCGCCTGG AGACGCCATC
3801 CACGCTGTTT TGACCTCCAT AGAAGACACC GGGACCGATC CAGCCTCCGC
3851 AAGCTTGATA TCGAATTCCCT GCAGCCCGGG GGATCCGCCC GCTTGCCGCC
3901 ACCATGGAGA CCCCCGCCCA GCTGCTGTTC CTGCTGCTGC TGTGGCTGCC
5 3951 CGACACCACC GCGGACATTC TGCTGACCCA GTCTCCAGCC ACCCTGTCTC
4001 TGAGTCCAGG AGAAAGAGCC ACTCTCTCCT GCAGGGCCAG TCAGAACATT
4051 GGCACAAGCA TACAGTG3TA TCAACAAAAA CCAGGTCAGG CTCCAAGGCT
4101 TCTCATAAGG TCTTCTTCTG AGTCTATCTC TGGGATCCCT TCCAGGTTTA
4151 GTGGCAGTGG ATCAGGGACA GATTTTACTC TTACCATCAG CAGTCTGGAG
10 4201 CCTGAAGATT TTGCAGTGTA TTA CTGTCAA CAAAGTAATA CCTGGCCATT
4251 CACGTTCGGC CAGGGGACCA AGCTGGAGAT CAAACGTGAG TATTCTAGAA
4301 AGATCCTAGA ATTCTAAACT CTGAGGGGGT CGGATGACGT GGCCATTCTT
4351 TGCCTAAAGC ATTGAGTTTA CTGCAAGGTC AGAAAAGCAT GCAAAGCCCT
4401 CAGAAATGGCT GCAAAGAGCT CCAACAAAAC AATTTAGAAC TTTATTAAGG
15 4451 AATAGGGGGA AGCTAGGAAG AACTCAAAA CATCAAGATT TTAAATACGC
4501 TTCTTGGTCT CCTTGCTATA ATTATCTGGG ATAAGCATGC TGT TTTCTGT
4551 CTGTCCCTAA CATGCCCTGT GATTATCCGC AAACAACACA CCCAAGGGCA
4601 GAACTTTGTT ACTTAAACAC CATCCTGTTT GCTTCTTTCC TCAGGAACTG
4651 TGGCTGCACC ATCTGTCTTC ATCTTCCCGC CATCTGATGA GCAGTTGAAA
20 4701 TCTGGAAGTG CCTCTGTTGT GTGCCTGCTG AATAACTTCT ATCCCAGAGA
4751 GGCCAAAGTA CAGTGGAAGG TGGATAACGC CCTCCAATCG GGTAAGTCCC
4801 AGGAGAGTGT CACAGAGCAG GACAGCAAGG ACAGCACCTA CAGCCTCAGC
4851 AGCACCTGA CGCTGAGCAA AGCAGACTAC GAGAAACACA AAGTCTACGC
4901 CTGCGAAGTC ACCCATCAGG GCCTGAGCTC GCCCGTCACA AAGAGCTTCA
25 4951 ACAGGGGAGA GTGTTAGAGG GAGAAGTGCC CCCACCTGCT CCTCAGTTCC

5001 AGCCTGACCC CCTCCCATCC TTTGGCCTCT GACCCTTTTT CCACAGGGGA
5051 CCTACCCCTA TTGCGGTCCT CCAGCTCATC TTTCACCTCA CCCCCCTCCT
5101 CCTCCTTGGC TTTAATTATG CTAATGTTGG AGGAGAATGA ATAAATAAAG
5151 TGAATCTTTG CACCTGTGGT TTCTCTCTTT CCTCATTTAA TAATTATTAT
5 5201 CTGTTGTTTA CCAACTACTC AATTTCTCTT ATAAGGGACT AAATATGTAG
5251 TCATCCTAAG GCGCATAACC ATTTATAAAA ATCATCCTTC ATTCTATTTT
5301 ACCCTATCAT CCTCTGCAAG ACAGTCCTCC CTCAAACCCA CAAGCCTTCT
5351 GTCCTCACAG TCCCCTGGGC CATGGTAGGA GAGACTTGCT TCCTTGTTTT
5401 CCCCTCCTCA GCAAGCCCTC ATAGTCCTTT TTAAGGGTGA CAGGTCTTAC
10 5451 AGTCATATAT CCTTTGATTC AATTCCCTGA GAATCAACCA AAGCAAATTT
5501 TTCAAAAGAA GAAACCTGCT ATAAAGAGAA TCATTCATTG CAACATGATA
5551 TAAAATAACA ACACAATAAA AGCAATTAAA TAAACAAACA ATAGGGAAAT
5601 GTTTAAGTTC ATCATGGTAC TTAGACTTAA TGGAATGTCA TGCCTTATTT
5651 ACATTTTTAA ACAGGTACTG AGGGACTCCT GTCTGCCAAG GGCCGTATTG
15 5701 AGTACTTTCC ACAACCTAAT TTAATCCACA CTATACTGTG AGATTAAAAA
5751 CATTCAATTAA AATGTTGCAA AGGTTCTATA AAGCTGAGAG ACAAATATAT
5801 TCTATAACTC AGCAATCCCA CTTCTAGATG ACTGAGTGTC CCCACCCACC
5851 AAAAACTAT GCAAGAATGT TCAAAGCAGC TTTATTTACA AAAGCCAAAA
5901 ATTGGAAATA GCCCGATTGT CCAACAATAG AATGAGTTAT TAAACTGTGG
20 5951 TATGTTTATA CATTAGAATA CCCAATGAGG AGAATTAACA AGCTACAACCT
6001 ATACCTACTC ACACAGATGA ATCTCATAAA AATAATGTTA CATAAGAGAA
6051 ACTCAATGCA AAAGATATGT TCTGTATGTT TTCATCCATA TAAAGTTCAA
6101 AACCAGGTAA AAATAAAGTT AGAAATTTGG ATGGAAATTA CTCTTAGCTG
6151 GGGGTGGGCG AGTTAGTGCC TGGGAGAAGA CAAGAAGGGG CTTCTGGGGT
25 6201 CTTGGTAATG TTCTGTTCCT CGTGTGGGGT TGTGCAGTTA TGATCTGTGC

6251 ACTGTTCTGT ATACACATTA TGCTTCAAAA TAACTTCACA TAAAGAACAT
6301 CTTATACCCA GTTAATAGAT AGAAGAGGAA TAAGTAATAG GTCAAGACCA
6351 CGCAGCTGGT AAGTGGGGGG GCCTGGGATC AAATAGCTAC CTGCCTAATC
6401 CTGCCCTCTT GAGCCCTGAA TGAGTCTGCC TTCCAGGGCT CAAGGTGCTC
5 6451 AACAAAACAA CAGGCCTGCT ATTTTCCTGG CATCTGTGCC CTGTTTGGCT
6501 AGCTAGGAGC ACACATACAT AGAAATTAAA TGAAACAGAC CTTCAGCAAG
6551 GGGACAGAGG ACAGAATTAA CCTTGCCCAG ACACTGGAAA CCCATGTATG
6601 AACACTCACA TGTTTGGGAA GGGGGAAGGG CACATGTAAA TGAGGACTCT
6651 TCCTCATTCT ATGGGGCACT CTGGCCCTGC CCCTCTCAGC TACTCATCCA
10 6701 TCCAACACAC CTTTCTAAGT ACCTCTCTCT GCCTACACTC TGAAGGGGTT
6751 CAGGAGTAAC TAACACAGCA TCCCTTCCCT CAAATGACTG ACAATCCCTT
6801 TGTCCCTGCTT TGTTTTTCTT TCCAGTCAGT ACTGGGAAAG TGGGGAAGGA
6851 CAGTCATGGA GAACTACAT AAGGAAGCAC CTTGCCCTTC TGCCTCTTGA
6901 GAATGTTGAT GAGTATCAAA TCTTTCAAAC TTTGGAGGTT TGAGTAGGGG
15 6951 TGAGACTCAG TAATGTCCCT TCCAATGACA TGAAC TTGCT CACTCATCCC
7001 TGGGGGCCAA ATTGAACAAT CAAAGGCAGG CATAATCCAG CTATGAATTC
7051 TAGGATCGAT CCAGACATGA TAAGATACAT TGATGAGTTT GGACAAACCA
7101 CAACTAGAAT GCAGTGAAAA AAATGCTTTA TTTGTGAAAT TTGTGATGCT
7151 ATTGCTTTAT TTGTAACCAT TATAAGCTGC AATAACAAG TTAACAACAA
20 7201 CAATTGCATT CATTTTATGT TTCAGGTTCA GGGGGAGGTG TGGGAGGTTT
7251 TTAAAGCAA GTAAAACCTC TACAAATGTG GTATGGCTGA TTATGATCTC
7301 TAGTCAAGGC ACTATACATC AAATATTCCT TATTAACCCC TTTACAAATT
7351 AAAAAGCTAA AGGTACACAA TTTTGTAGCA TAGTTATTAA TAGCAGACAC
7401 TCTATGCCTG TGTGGAGTAA GAAAAACAG TATGTTATGA TTATAACTGT
25 7451 TATGCCTACT TATAAAGGTT ACAGAATATT TTTCCATAAT TTTCTTGAT

7501 AGCAGTGCAG CTTTTTCCTT TGTGGTGTAA ATAGCAAAGC AAGCAAGAGT
7551 TCTATTACTA AACACAGCAT GACTCAAAAA ACTTAGCAAT TCTGAAGGAA
7601 AGTCCTTGGG GTCTTCTACC TTTCTCTTCT TTTTGGAGG AGTAGAATGT
7651 TGAGAGTCAG CAGTAGCCTC ATCATCACTA GATGGCATT TTTCTGAGCA
5 7701 AAACAGGTTT TCCTCATTAA AGGCATTCCA CCACTGCTCC CATTATCAG
7751 TTCCATAGGT TGGAATCTAA AATACACAAA CAATTAGAAT CAGTAGTTTA
7801 ACACATTATA CACTTAAAAA TTTTATATTT ACCTTAGAGC TTAAATCTC
7851 TGTAGGTAGT TTGTCCAATT ATGTCACACC ACAGAAGTAA GGTTCCTTCA
7901 CAAAGATCCG GGACCAAAGC GGCCATCGTG CCTCCCCACT CCTGCAGTTC
10 7951 GGGGGCATGG ATGCGCGGAT AGCCGCTGCT GGTTTCCTGG ATGCCGACGG
8001 ATTTGCACTG CCGGTAGAAC TCCGCGAGGT CGTCCAGCCT CAGGCAGCAG
8051 CTGAACCAAC TCGCGAGGGG ATCGAGCCCG GGGTGGGCGA AGAACTCCAG
8101 CATGAGATCC CCGCGCTGGA GGATCATCCA GCCGGCGTCC CGGAAAACGA
8151 TTCCGAAGCC CAACCTTTCA TAGAAGGCGG CGGTGGAATC GAAATCTCGT
15 8201 GATGGCAGGT TGGGCGTCGC TTGGTCGGTC ATTTCGAACC CCAGAGTCCC
8251 GCTCAGAAGA ACTCGTCAAG AAGGCGATAG AAGGCGATGC GCTGCGAATC
8301 GGGAGCGGCG ATACCGTAAA GCACGAGGAA GCGGTCAGCC CATTGCGCGC
8351 CAAGCTCTTC AGCAATATCA CGGGTAGCCA ACGCTATGTC CTGATAGCGG
8401 TCCGCCACAC CCAGCCGGCC ACAGTCGATG AATCCAGAAA AGCGGCCATT
20 8451 TTCCACCATG ATATTCGGCA AGCAGGCATC GCCATGGGTC ACGACGAGAT
8501 CCTCGCCGTC GGGCATGCGC GCCTTGAGCC TGGCGAACAG TTCGGCTGGC
8551 GCGAGCCCCT GATGCTCTTC GTCCAGATCA TCCTGATCGA CAAGACCGGC
8601 TTCCATCCGA GTACGTGCTC GCTCGATGCG ATGTTTCGCT TGGTGGTCGA
8651 ATGGGCAGGT AGCCGGATCA AGCGTATGCA GCCGCCGCAT TGCATCAGCC
25 8701 ATGATGGATA CTTTCTCGGC AGGAGCAAGG TGAGATGACA GGAGATCCTG

8751 CCCC GGCACT TCGCCCAATA GCAGCCAGTC CCTTCCCGCT TCAGTGACAA
 8801 CGTCGAGCAC AGCTGCGCAA GGAACGCCCCG TCGTGGCCAG CCACGATAGC
 8851 CGCGCTGCCT CGTCCTGCAG TTCATTCAGG GCACCGGACA GGTGCGGTCTT
 8901 GACAAAAAGA ACCGGGCGGCC CCTGCGCTGA CAGCCGGAAC ACGGCGGCAT
 5 8951 CAGAGCAGCC GATTGTCTGT TGTGCCCAGT CATAGCCGAA TAGCCTCTCC
 9001 ACCCAAGCGG CCGGAGAACC TCGGTGCAAT CCATCTTGTT CAATCATGCG
 9051 AAACGATCCT CATCCTGTCT CTTGATCAGA TCTTGATCCC CTGCGCCATC
 9101 AGATCCTTGG CGGCAAGAAA GCCATCCAGT TTACTTTGCA GGGCTTCCCA
 9151 ACCTTACCAG AGGGCGCCCC AGCTGGCAAT TCCGGTTCGC TTGCTGTCCA
 10 9201 TAAACCGCC CAGTCTAGCT ATCGCCATGT AAGCCCACTG CAAGCTACCT
 9251 GCTTTCTCTT TGCGCTIGCG TTTTCCCTTG TCCAGATAGC CCAGTAGCTG
 9301 ACATTCATCC GGGGTCAGCA CCGTTTCTGC GGA CTGGCTT TCTACGTGTT
 9351 CCGCTTCCTT TAGCAGCCCT TGCGCCCTGA GTGCTTGCGG CAGCGTGAAG

15 **SEQ ID NO:18**

**Secuencia de Nucleótidos del Vector de Expresión HCMV-K HuAb-
 VL1 hum V2 (Secuencia de ADN Completa de un Vector de
 Expresión de Cadena Ligera Humanizado que Comprende la SEQ ID
 NO: 13 (humV2=VLm) de 3926-4246)**

20 1 CTAGCTTTTT GCAAAAGCCT AGGCCTCCAA AAAAGCCTCC TCACTACTTC
 51 TGGAATAGCT CAGAGGCCGA GGCGGCCTCG GCCTCTGCAT AAATAAAAAA
 101 AATTAGTCAG CCATGGGGCG GAGAATGGGC GGA ACTGGGC GGAGTTAGGG
 151 GCGGGATGGG CGGAGTTAGG GGCGGGACTA TGGTTGCTGA CTAATTGAGA
 201 TGCATGCTTT GCATACTTCT GCCTGCTGGG GAGCCTGGTT GCTGACTAAT
 25 251 TGAGATGCAT GCTTTGCATA CTTCTGCCTG CTGGGGAGCC TGGGGACTTT

301 CCACACCCTA ACTGACACAC ATTCCACAGC TGCCTCGCGC GTTTCGGTGA
351 TGACGGTGAA AACCTCTGAC ACATGCAGCT CCCGGAGACG GTCACAGCTT
401 GTCTGTAAGC GGATGCCGGG AGCAGACAAG CCCGTCAGGG CGCGTCAGCG
451 GGTGTTGGCG GGTGTCGGGG CGCAGCCATG ACCCAGTCAC GTAGCGATAG
5 501 CGGAGTGTAT ACTGGCTTAA CTATGCGGCA TCAGAGCAGA TTGTACTGAG
551 AGTGCACCAT ATGCGGTGTG AAATACCGCA CAGATGCGTA AGGAGAAAAT
601 ACCGCATCAG GCGCTCTTCC GCTTCCTCGC TCACTGACTC GCTGCGCTCG
651 GTCGTTCGGC TCGGGCGAGC GGTATCAGCT CACTCAAAGG CGGTAATACG
701 GTTATCCACA GAATCAGGGG ATAACGCAGG AAAGAACATG TGAGCAAAAG
10 751 GCCAGCAAAA GGCCAGGAAC CGTAAAAAGG CCGCGTTGCT GGCCTTTTTTC
801 CATAGGCTCC GCCCCCTGA CGAGCATCAC AAAAATCGAC GCTCAAGTCA
851 GAGGTGGCGA AACCCGACAG GACTATAAAG ATACCAGGCG TTTCCCCCTG
901 GAAGCTCCCT CGTGCGCTCT CCTGTTCCGA CCCTGCCGCT TACCGGATAC
951 CTGTCCGCCT TTCTCCCTTC GGGAAGCGTG GCGCTTTCTC ATAGCTCACG
15 1001 CTGTAGGTAT CTCAGTTCGG TGTAGGTCGT TCGCTCCAAG CTGGGCTGTG
1051 TGCACGAACC CCCCGTTCAG CCCGACCGCT GCGCCTTATC CGGTAACTAT
1101 CGTCTTGAGT CCAACCCGGT AAGACACGAC TTATCGCCAC TGGCAGCAGC
1151 CACTGGTAAC AGGATTAGCA GAGCGAGGTA TGTAGGCGGT GCTACAGAGT
1201 TCTTGAAGTG GTGGCCTAAC TACGGCTACA CTAGAAGGAC AGTATTTGGT
20 1251 ATCTGCGCTC TGCTGAAGCC AGTTACCTTC GGAAAAAGAG TTGGTAGCTC
1301 TTGATCCGGC AAACAAACCA CCGCTGGTAG CGGTGGTTTT TTTGTTTGCA
1351 AGCAGCAGAT TACGCGCAGA AAAAAAGGAT CTCAAGAAGA TCCTTTGATC
1401 TTTTCTACGG GGTCTGACGC TCAGTGGAAC GAAAACTCAC GTTAAGGGAT
1451 TTTGGTCATG AGATTATCAA AAAGGATCTT CACCTAGATC CTTTTAAATT
25 1501 AAAAAATGAAG TTTTAAATCA ATCTAAAGTA TATATGAGTA AACTTGGTCT

1551 GACAGTTACC AATGCTTAAT CAGTGAGGCA CCTATCTCAG CGATCTGTCT
1601 ATTTTCGTTCA TCCATAGTTG CCTGACTCCC CGTCGTGTAG ATAACTACGA
1651 TACGGGAGGG CTTACCATCT GGCCCCAGTG CTGCAATGAT ACCGCGAGAC
1701 CCACGCTCAC CGGCTCCAGA TTTATCAGCA ATAAACCAGC CAGCCGGAAG
5 1751 GGCCGAGCGC AGAAGTGGTC CTGCAACTTT ATCCGCCTCC ATCCAGTCTA
1801 TTAATTGTTG CCGGGAAGCT AGAGTAAGTA GTTCGCCAGT TAATAGTTTG
1851 CGCAACGTTG TTGCCATTGC TGCAGGCATC GTGGTGTAC GCTCGTCGTT
1901 TGGTATGGCT TCATTGAGCT CCGGTTCCCA ACGATCAAGG CGAGTTACAT
1951 GATCCCCCAT GTTGTGCAA AAAGCGGTTA GTCCTTCGG TCCTCCGATC
10 2001 GTTGTGAGAA GTAAGTTGGC CGCAGTGTTA TCACTCATGG TTATGGCAGC
2051 ACTGCATAAT TCTCTTACTG TCATGCCATC CGTAAGATGC TTTTCTGTGA
2101 CTGGTGAGTA CTCAACCAAG TCATTCTGAG AATAGTGTAT GCGGCGACCG
2151 AGTTGCTCTT GCCCGGCGTC AACACGGGAT AATACCGCGC CACATAGCAG
2201 AACTTTAAAA GTGCTCATCA TTGGAAAACG TTCTTCGGGG CGAAAACTCT
15 2251 CAAGGATCTT ACCGCTGTTG AGATCCAGTT CGATGTAACC CACTCGTGCA
2301 CCCAACTGAT CTTGAGCATC TTTTACTTTC ACCAGCGTTT CTGGGTGAGC
2351 AAAAACAGGA AGGCAAAATG CCGCAAAAAA GGAATAAGG GCGACACGGA
2401 AATGTTGAAT ACTCATACTC TTCCTTTTTT AATATTATTG AAGCATTTAT
2451 CAGGGTTATT GTCTCATGAG CGGATACATA TTTGAATGTA TTTAGAAAAA
20 2501 TAAACAAATA GGGGTTCGCG GCACATTTCC CCGAAAAGTG CCACCTGACG
2551 TCTAAGAAAC CATTATTATC ATGACATTAA CCTATAAAAA TAGGCGTATC
2601 ACGAGGCCCT TTCGTCCTCA AGAATTCAGC TTGGCTGCAG TGAATAATAA
2651 AATGTGTGTT TGTCCGAAAT ACGCGTTTTG AGATTTCTGT CGCCGACTAA
2701 ATTCATGTCG CGCGATAGTG GTGTTTATCG CCGATAGAGA TGGCGATATT
25 2751 GGAAAAATCG ATATTTGAAA ATATGGCATA TTGAAAATGT CGCCGATGTG

2801 AGTTTCTGTG TAACTGATAT CGCCATTTTT CCAAAAGTGA TTTTGGGCA
2851 TACGCGATAT CTGGCGATAG CGCTTATATC GTTTACGGGG GATGGCGATA
2901 GACGACTTTG GTGACTTGGG CGATTCTGTG TGTCGCAAAT ATCGCAGTTT
2951 CGATATAGGT GACAGACGAT ATGAGGCTAT ATCGCCGATA GAGGCGACAT
5 3001 CAAGCTGGCA CATGGCCAAT GCATATCGAT CTATACATTG AATCAATATT
3051 GGCCATTAGC CATATTATTC ATTGGTTATA TAGCATAAAT CAATATTGGC
3101 TATTGGCCAT TGCATACGTT GTATCCATAT CATAATATGT ACATTTATAT
3151 TGGCTCATGT CCAACATTAC CGCCATGTTG ACATTGATTA TTGACTAGTT
3201 ATTAATAGTA ATCAATTACG GGGTCATTAG TTCATAGCCC ATATATGGAG
10 3251 TTCCGCGTTA CATAACTTAC GGTAAATGGC CCGCCTGGCT GACCGCCCAA
3301 CGACCCCCGC CCATTGACGT CAATAATGAC GTATGTTCCC ATAGTAACGC
3351 CAATAGGGAC TTTCCATTGA CGTCAATGGG TGGAGTATTT ACGGTAAACT
3401 GCCCACTTGG CAGTACATCA AGTGTATCAT ATGCCAAGTA CGCCCCCTAT
3451 TGACGTCAAT GACGGTAAAT GGCCCGCCTG GCATTATGCC CAGTACATGA
15 3501 CCTTATGGGA CTTTCCCTACT TGGCAGTACA TCTACGTATT AGTCATCGCT
3551 ATTACCATGG TGATGCGGTT TTGGCAGTAC ATCAATGGGC GTGGATAGCG
3601 GTTTGACTCA CGGGGATTTT CAAGTCTCCA CCCCATTGAC GTCAATGGGA
3651 GTTTGTTTTG GCACCAAAT CAACGGGACT TTCCAAAATG TCGTAACAAC
3701 TCCGCCCCAT TGACGCAAAT GGGCGGTAGG CGTGTACGGT GGGAGGTCTA
20 3751 TATAAGCAGA GCTCGTTTAG TGAACCGTCA GATCGCCTGG AGACGCCATC
3801 CACGCTGTTT TGACCTCCAT AGAAGACACC GGGACCGATC CAGCCTCCGC
3851 AAGCTTGCCG CCACCATGGA GACCCCCGCC CAGCTGCTGT TCCTGCTGCT
3901 GCTGTGGCTG CCCGACACCA CCGGCGACAT TCTGCTGACC CAGTCTCCAG
3951 CCACCCTGTC TCTGAGTCCA GGAGAAAGAG CCACTTTCTC CTGCAGGGCC
25 4001 AGTCAGAACA TTGGCACAAG CATACAGTGG TATCAACAAA AAACAAATGG

4051 TGCTCCAAGG CTTCTCATAA GGTCTTCTTC TGAGTCTATC TCTGGGATCC
4101 CTTCCAGGTT TAGTGGCAGT GGATCAGGGA CAGATTTTAC TCTTACCATC
4151 AGCAGTCTGG AGCCTGAAGA TTTTGCAGTG TATTACTGTC AACAAAGTAA
4201 TACCTGGCCA TTCACGTTTCG GCCAGGGGAC CAAGCTGGAG ATCAAACGTG
5 4251 AGTATTCTAG AAAGATCCTA GAATTCTAAA CTCTGAGGGG GTCGGATGAC
4301 GTGGCCATTC TTTGCCTAAA GCATTGAGTT TACTGCAAGG TCAGAAAAGC
4351 ATGCAAAGCC CTCAGAATGG CTGCAAAGAG CTCCAACAAA ACAATTTAGA
4401 ACTTTATTAA GGAATAGGGG GAAGCTAGGA AGAAACTCAA AACATCAAGA
4451 TTTTAAATAC GCTTCTTGGT CTCCTTGCTA TAATTATCTG GGATAAGCAT
10 4501 GCTGTTTTCT GTCTGTCCCT AACATGCCCT GTGATTATCC GCAAACAACA
4551 CACCCAAGGG CAGAACTTTG TTA CTTAAAC ACCATCCTGT TTGCTTCTTT
4601 CCTCAGGAAC TGTGGCTGCA CCATCTGTCT TCATCTTCCC GCCATCTGAT
4651 GAGCAGTTGA AATCTGGAAC TGCCTCTGTT GTGTGCCTGC TGAATAACTT
4701 CTATCCCAGA GAGGCCAAAG TACAGTGGAA GGTGGATAAC GCCCTCCAAT
15 4751 CGGGTAACTC CCAGGAGAGT GTCACAGAGC AGGACAGCAA GGACAGCACC
4801 TACAGCCTCA GCAGCACCCT GACGCTGAGC AAAGCAGACT ACGAGAAACA
4851 CAAAGTCTAC GCCTGCGAAG TCACCCATCA GGGCCTGAGC TCGCCCGTCA
4901 CAAAGAGCTT CAACAGSGGA GAGTGTTAGA GGGAGAAGTG CCCCCACCTG
4951 CTCCTCAGTT CCAGCCTGAC CCCCTCCCAT CCTTTGGCCT CTGACCCTTT
20 5001 TTCCACAGGG GACCTACCCC TATTGCGGTC CTCCAGCTCA TCTTTCACCT
5051 CACCCCCCTC CTCCTCCTTG GCTTTAATTA TGCTAATGTT GGAGGAGAAT
5101 GAATAAATAA AGTGAATCTT TGCACCTGTG GTTTCTCTCT TTCCTCATTT
5151 AATAATTATT ATCTGTTGTT TACCAACTAC TCAATTTCTC TTATAAGGGA
5201 CTAAATATGT AGTCATCCTA AGGCGCATAA CCATTTATAA AAATCATCCT
25 5251 TCATTCTATT TTACCCTATC ATCCTCTGCA AGACAGTCCT CCCTCAAACC

5301 CACAAGCCTT CTGTCCTCAC AGTCCCCTGG GCCATGGTAG GAGAGACTTG
5351 CTTCCCTTGTT TTCCCCTCCT CAGCAAGCCC TCATAGTCCT TTTTAAGGGT
5401 GACAGGTCTT ACAGTCATAT ATCCTTTGAT TCAATTCCCT GAGAATCAAC
5451 CAAAGCAAAT TTTTCAAAAG AAGAAACCTG CTATAAAGAG AATCATT CAT
5 5501 TGCAACATGA TATAAAATAA CAACACAATA AAAGCAATTA AATAAACAAA
5551 CAATAGGGAA ATGTTTAAGT TCATCATGGT ACTTAGACTT AATGGAATGT
5601 CATGCCTTAT TTACATITTT AAACAGGTAC TGAGGGACTC CTGTCTGCCA
5651 AGGGCCGTAT TGAGTACTTT CCACAACCTA ATTTAATCCA CACTATACTG
5701 TGAGATTAAA AACATTCATT AAAATGTTGC AAAGGTTCTA TAAAGCTGAG
10 5751 AGACAAATAT ATTCTATAAC TCAGCAATCC CACTTCTAGA TGACTGAGTG
5801 TCCCCACCCA CCAAAAAACT ATGCAAGAAT GTTCAAAGCA GCTTTATTTA
5851 CAAAAGCCAA AAATTGGAAA TAGCCCGATT GTCCAACAAT AGAATGAGTT
5901 ATTAAACTGT GGTATGTTTA TACATTAGAA TACCCAATGA GGAGAATTAA
5951 CAAGCTACAA CTATACCTAC TCACACAGAT GAATCTCATA AAAATAATGT
15 6001 TACATAAGAG AACTCAATG CAAAAGATAT GTTCTGTATG TTTTCATCCA
6051 TATAAAGTTC AAAACCAGGT AAAAATAAAG TTAGAAATTT GGATGGAAAT
6101 TACTCTTAGC TGGGGGTGGG CGAGTTAGTG CCTGGGAGAA GACAAGAAGG
6151 GGCTTCTGGG GTCTTGGTAA TGTTCTGTTC CTCGTGTGGG GTTGTGCAGT
6201 TATGATCTGT GCACTGTTCT GTATACACAT TATGCTTCAA AATAACTTCA
20 6251 CATAAAGAAC ATCTTATACC CAGTTAATAG ATAGAAGAGG AATAAGTAAT
6301 AGGTCAAGAC CACGCAGCTG GTAAGTGGGG GGGCCTGGGA TCAAATAGCT
6351 ACCTGCCTAA TCCTGCCCTC TTGAGCCCTG AATGAGTCTG CCTTCCAGGG
6401 CTCAAGGTGC TCAACAAAAC AACAGGCCTG CTATTTTCCT GGCATCTGTG
6451 CCCTGTTTGG CTAGCTAGGA GCACACATAC ATAGAAATTA AATGAAACAG
25 6501 ACCTTCAGCA AGGGGACAGA GGACAGAATT AACCTTGCCC AGACACTGGA

6551 AACCCATGTA TGAACACTCA CATGTTTGGG AAGGGGGAAG GGCACATGTA
6601 AATGAGGACT CTTCTCATT CTATGGGGCA CTCTGGCCCT GCCCTCTCA
6651 GCTACTCATC CATCCAACAC ACCTTTCTAA GTACCTCTCT CTGCCTACAC
6701 TCTGAAGGGG TTCAGGAGTA ACTAACACAG CATCCCTTCC CTCAAATGAC
5 6751 TGACAATCCC TTTGTCCTGC TTTGTTTTTC TTTCCAGTCA GTACTGGGAA
6801 AGTGGGGAAG GACAGTCATG GAGAACTAC ATAAGGAAGC ACCTTGCCCT
6851 TCTGCCTCTT GAGAATGTTG ATGAGTATCA AATCTTTCAA ACTTTGGAGG
6901 TTTGAGTAGG GGTGAGACTC AGTAATGTCC CTTCCAATGA CATGAACTTG
6951 CTCCTCATC CCTGGGGGCC AAATTGAACA ATCAAAGGCA GGCATAATCC
10 7001 AGCTATGAAT TCTAGGATCG ATCCAGACAT GATAAGATAC ATTGATGAGT
7051 TTGGACAAAC CACAAC TAGA ATGCAGTGAA AAAAATGCTT TATTTGTGAA
7101 ATTTGTGATG CTATTGCTTT ATTTGTAACC ATTATAAGCT GCAATAAACA
7151 AGTTAACAAC AACAATTGCA TTCATTTTAT GTTTCAGGT CAGGGGGAGG
7201 TGTGGGAGGT TTTTAAAGC AAGTAAACC TCTACAAATG TGGTATGGCT
15 7251 GATTATGATC TCTAGTCAAG GCACTATACA TCAAATATTC CTTATTAACC
7301 CCTTTACAAA TTAAAAAGCT AAAGGTACAC AATTTTGTAG CATAGTTATT
7351 AATAGCAGAC ACTCTATGCC TGTGTGGAGT AAGAAAAAAC AGTATGTTAT
7401 GATTATAACT GTTATGCCTA CTTATAAAGG TTACAGAATA TTTTCCATA
7451 ATTTTCTTGT ATAGCAGTGC AGCTTTTTC TTTGTGGTGT AAATAGCAAA
20 7501 GCAAGCAAGA GTTCTATTAC TAAACACAGC ATGACTCAAA AAACCTTAGCA
7551 ATTCTGAAGG AAAGTCCTTG GGGTCTTCTA CCTTTCTCTT CTTTTTTGGA
7601 GGAGTAGAAT GTTGAGAGTC AGCAGTAGCC TCATCATCAC TAGATGGCAT
7651 TTCTTCTGAG CAAACAGGT TTTCTCATT AAAGGCATTC CACCACTGCT
7701 CCCATTCATC AGTTCCATAG GTTGAATCT AAAATACACA AACAATTAGA
25 7751 ATCAGTAGTT TAACACATTA TACACTTAAA AATTTTATAT TTACCTTAGA

7801 GCTTTAAATC TCTGTAGGTA GTTTGTCCAA TTATGTCACA CCACAGAAGT
7851 AAGGTTCCCTT CACAAAGATC CGGGACCAAA GCGGCCATCG TGCCTCCCCA
7901 CTCCTGCAGT TCGGGGGCAT GGATGCGCGG ATAGCCGCTG CTGGTTTCCT
7951 GGATGCCGAC GGATTTGCAC TGCCGGTAGA ACTCCGCGAG GTCGTCCAGC
5 8001 CTCAGGCAGC AGCTGAACCA ACTCGCGAGG GGATCGAGCC CGGGGTGGGC
8051 GAAGAACTCC AGCATGAGAT CCCC GCGCTG GAGGATCATC CAGCCGGCGT
8101 CCCGGAAAAC GATTCCGAAG CCCAACCTTT CATAGAAGGC GCGGTGGAA
8151 TCGAAATCTC GTGATGGCAG GTTGGGCGTC GCTTGGTCGG TCATTTTCGAA
8201 CCCCAGAGTC CCGCTCAGAA GAACTCGTCA AGAAGGCGAT AGAAGGCGAT
10 8251 GCGCTGCGAA TCGGGAGCGG CGATACCGTA AAGCACGAGG AAGCGGTCAG
8301 CCCATTCGCC GCCAAGCTCT TCAGCAATAT CACGGGTAGC CAACGCTATG
8351 TCCTGATAGC GGTCCGCCAC ACCCAGCCGG CCACAGTCGA TGAATCCAGA
8401 AAAGCGGCCA TTTTCCACCA TGATATTCGG CAAGCAGGCA TCGCCATGGG
8451 TCACGACGAG ATCCTCGCCG TCGGGCATGC GCGCCTTGAG CCTGGCGAAC
15 8501 AGTTCGGCTG GCGCGAGCCC CTGATGCTCT TCGTCCAGAT CATCCTGATC
8551 GACAAGACCG GCTTCCATCC GAGTACGTGC TCGCTCGATG CGATGTTTCG
8601 CTTGGTGGTC GAATGGGCAG GTAGCCGGAT CAAGCGTATG CAGCCGCCGC
8651 ATTGCATCAG CCATGATGGA TACTTTCTCG GCAGGAGCAA GGTGAGATGA
8701 CAGGAGATCC TGCCCCGGCA CTTGCCCCAA TAGCAGCCAG TCCCTTCCCG
20 8751 CTTCAGTGAC AACGTCGAGC ACAGCTGCGC AAGGAACGCC CGTCGTGGCC
8801 AGCCACGATA GCCGCGCTGC CTCGTCCTGC AGTTCATTCA GGGCACCGGA
8851 CAGGTCGGTC TTGACAAAA GAACCGGGCG CCCCTGCGCT GACAGCCGGA
8901 ACACGGCGGC ATCAGAGCAG CCGATTGTCT GTTGTGCCCA GTCATAGCCG
8951 AATAGCCTCT CCACCCAAGC GGCCGGAGAA CCTGCGTGCA ATCCATCTTG
25 9001 TTCAATCATG CGAAACGATC CTCATCCTGT CTCTTGATCA GATCTTGATC

9051 CCCTGCGCCA TCAGATCCTT GGCGGCAAGA AAGCCATCCA GTTTACTTTG
9101 CAGGGCTTCC CAACCTTACC AGAGGGCGCC CCAGCTGGCA ATTCCGGTTC
9151 GCTTGCTGTC CATAAAACCG CCCAGTCTAG CTATCGCCAT GTAAGCCCAC
9201 TGCAAGCTAC CTGCTTTCTC TTTGCGCTTG CGTTTTCCCT TGTCCAGATA
5 9251 GCCCAGTAGC TGACATTCAT CCGGGGTCAG CACCGTTTCT GCGGACTGGC
9301 TTTCTACGTG TTCCGCTTCC TTTAGCAGCC CTTGCGCCCT GAGTGCTTGC
9351 GGCAGCGTGA AG

10

15

20

25

REIVINDICACIONES

1. Una molécula de enlace que comprende cuando
 5 menos un sitio de enlace de antígeno, que comprende en la
 secuencia las regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3,
 teniendo la CDR1 la secuencia de aminoácidos Asn-Tyr-Ile-Ile-
 His (NYIIH), teniendo la CDR2 la secuencia de aminoácidos
 Tyr-Phe-Asn-Pro-Tyr-Asn-His-Gly-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-
 10 Lys-Gly (YFNPYNHGTTYNEKFKG), y teniendo la CDR3 la secuencia
 de aminoácidos Ser-Gly-Pro-Tyr-Ala-Trp-Phe-Asp-Thr
 (SGPYAWFDT).

2. Una molécula de enlace de acuerdo con la
 reivindicación 1, la cual comprende:

15 a) un primer dominio que comprende en la
 secuencia las regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3,
 teniendo la CDR1 la secuencia de aminoácidos Asn-Tyr-Ile-Ile-
 His (NYIIH), teniendo la CDR2 la secuencia de aminoácidos
 Tyr-Phe-Asn-Pro-Tyr-Asn-His-Gly-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-
 20 Lys-Gly (YFNPYNHGT KYNEKFKG), y teniendo la CDR3 la secuencia
 de aminoácidos Ser-Gly-Pro-Tyr-Ala-Trp-Phe-Asp-Thr
 (SGPYAWFDT); y

b) un segundo dominio que comprende en la
 secuencia las regiones hipervariables CDR1', CDR2', y CDR3',
 25 teniendo la CDR1' la secuencia de aminoácidos Arg-Ala-Ser-

Gln-Asn-Ile-Gly-Thr-Ser-Ile-Gln (RASQNIGTSIQ), teniendo la CDR2' la secuencia de aminoácidos Ser-Ser-Ser-Glu-Ser-Ile-Ser (SSSESIS), y teniendo la CDR3' la secuencia de aminoácidos Gln-Gln-Ser-Asn-Thr-Trp-Pro-Phe-Thr (QQSNTWPFT).

5 3. Una molécula de enlace de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, la cual es un anticuerpo monoclonal quimérico o humanizado.

4. Una molécula de enlace de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, la cual comprende un polipéptido de la SEQ ID NO:1, y/o un polipéptido de la SEQ ID NO:2.

5. Una molécula de enlace de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, la cual comprende un polipéptido de la SEQ ID NO:3, y/o un polipéptido de la SEQ ID NO:4.

6. Una molécula de enlace de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 ó 5, la cual es un anticuerpo monoclonal quimérico.

7. Una molécula de enlace que es un anticuerpo humanizado que comprende un polipéptido de la SEQ ID NO:9 o de la SEQ ID NO:10, y un polipéptido de la SEQ ID NO:7 o de la SEQ ID NO:8.

8. Una molécula de enlace que es un anticuerpo humanizado que comprende:

25 - un polipéptido de la SEQ ID NO:9 y un polipéptido

102
revisado
10/10/2011

revisado
10/10/2011

revisado
10/10/2011

de la SEQ ID NO:7,

- un polipéptido de la SEQ ID NO:9 y un polipéptido de la SEQ ID NO:8,

- un polipéptido de la SEQ ID NO:10 y un polipéptido de la SEQ ID NO:7, ó

- un polipéptido de la SEQ ID NO:10 y un polipéptido de la SEQ ID NO:8.

9/ Polinucleótidos aislados que comprenden polinucleótidos que codifican una molécula de enlace de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

10/ Polinucleótidos de acuerdo con la reivindicación 9, que codifican la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2, y CDR3, de acuerdo con la reivindicación 2, y/o polinucleótidos que codifican la secuencia de aminoácidos de las CDR1', CDR2', y CDR3', de acuerdo con la reivindicación 2.

11/ Polinucleótidos que comprenden un polinucleótido de la SEQ ID NO:5, y/o un polinucleótido de la SEQ ID NO:6.

20 12/ Polinucleótidos que comprenden polinucleótidos que codifican un polipéptido de la SEQ ID NO:7 o de la SEQ ID NO:8, y un polipéptido de la SEQ ID NO:9 o de la SEQ ID NO:10.

13/ Polinucleótidos que comprenden un polinucleótido de la SEQ ID NO:11 o de la SEQ ID NO:12, y un

Corrigido

polinucleótido de la SEQ ID NO:13, o un polinucleótido de la SEQ ID NO:14.

14. Un vector de expresión que comprende polinucleótidos de acuerdo con cualquiera de las
5 reivindicaciones 9 a 13.

15. Un sistema de expresión que comprende un polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, en donde este sistema de expresión o parte del mismo, es capaz de producir un polipéptido de
10 cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, cuando está presente este sistema de expresión o parte del mismo en una célula hospedera compatible.

16. Una célula hospedera aislada que comprende un sistema de expresión de acuerdo con la reivindicación 15.

15 17. El uso de una molécula o de un anticuerpo humanizado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, como un producto farmacéutico.

18. El uso de acuerdo con la reivindicación 17, en el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades autoinmunes,
20 rechazo de trasplante, psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino, y alergias.

19. Una composición farmacéutica que comprende una molécula o un anticuerpo humanizado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en asociación con cuando menos
25 un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

20. Un método de tratamiento y/o profilaxis de enfermedades asociadas con enfermedades autoinmunes, rechazo de trasplante, psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino, y alergias, el cual comprende administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento y/o profilaxis, una cantidad efectiva de una molécula o de un anticuerpo humanizado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

21. El uso de una molécula de enlace que tiene una especificidad de enlace para tanto CD45RO como CD45RB en medicina.

22. El uso de acuerdo con la reivindicación 21, en donde la molécula de enlace es un anticuerpo monoclonal quimérico, humanizado, o completamente humano.

23. El uso de acuerdo con la reivindicación 21 ó 22, en donde la molécula de enlace se enlaza con una isoforma CD45RO con una constante de disociación (K_d) $<15\text{nM}$.

24. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 21 a 23, en donde la molécula de enlace se enlaza con una isoforma CD45RB con una constante de disociación (K_d) $<15\text{nM}$.

25. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 21 a 24, en donde la molécula de enlace se enlaza con las isoformas CD45, las cuales:

- incluyen a los epítopos A y B, pero no al

epítipo C de la molécula CD45; y/o

- incluyen al epítipo B, pero no a los epítipos A ni C de la molécula CD45; y/o

- isoformas que no incluyen a ninguno de los 5 epítipos A, B, ó C de la molécula CD45.

26. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 21 a 25, en donde la molécula de enlace no se enlaza con las isoformas CD45 que:

- incluyan a todos los epítipos A, B, y C de la 10 molécula CD45; y/o

- incluyan a ambos epítipos B y C, pero no al epítipo A de la molécula CD45.

27. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 21 a 26, en donde la molécula de enlace se 15 enlaza con su epítipo blanco sobre las células PEER, y en donde este enlace es con una $K_d < 15 \text{ nM}$.

20

25

RESUMEN

Una molécula que comprende cuando menos un sitio de
5 enlace de antígeno, la cual comprende, en la secuencia, las
regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3, teniendo la CDR1
la secuencia de aminoácidos Asn-Tyr-Ile-Ile-His (NYIH),
teniendo la CDR2 la secuencia de aminoácidos Tyr-Phe-Asn-Pro-
Tyr-Asn-His-Gly-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-Lys-Gly
10 (YFNPYNHGTTYNEKFKG) y teniendo la CDR3 la secuencia de
aminoácidos Ser-Gly-Pro-Tyr-Ala-Trp-Phe-Asp-Thr (SGPYAWFDT);
por ejemplo, que comprende además en la secuencia, las
regiones hipervariables CDR1', CDR2', y CDR3', teniendo la
CDR1' la secuencia de aminoácidos Arg-Ala-Ser-Gln-Asn-Ile-
15 Gly-Thr-Ser-Ile-Gln (8RASQNIQTSIQ), teniendo la CDR' la
secuencia de aminoácidos Ser-Ser-Ser-Glu-Ser-Ile-Ser
(SSSESIS), y teniendo la CDR3' la secuencia de aminoácidos
Gln-Gln-Ser-Asn-Thr-Trp-Pro-Phe-Thr (QQSNTWPFT), por ejemplo
un anticuerpo quimérico o humanizado, útil como un producto
20 farmacéutico.

* * * * *

Figura 1/5

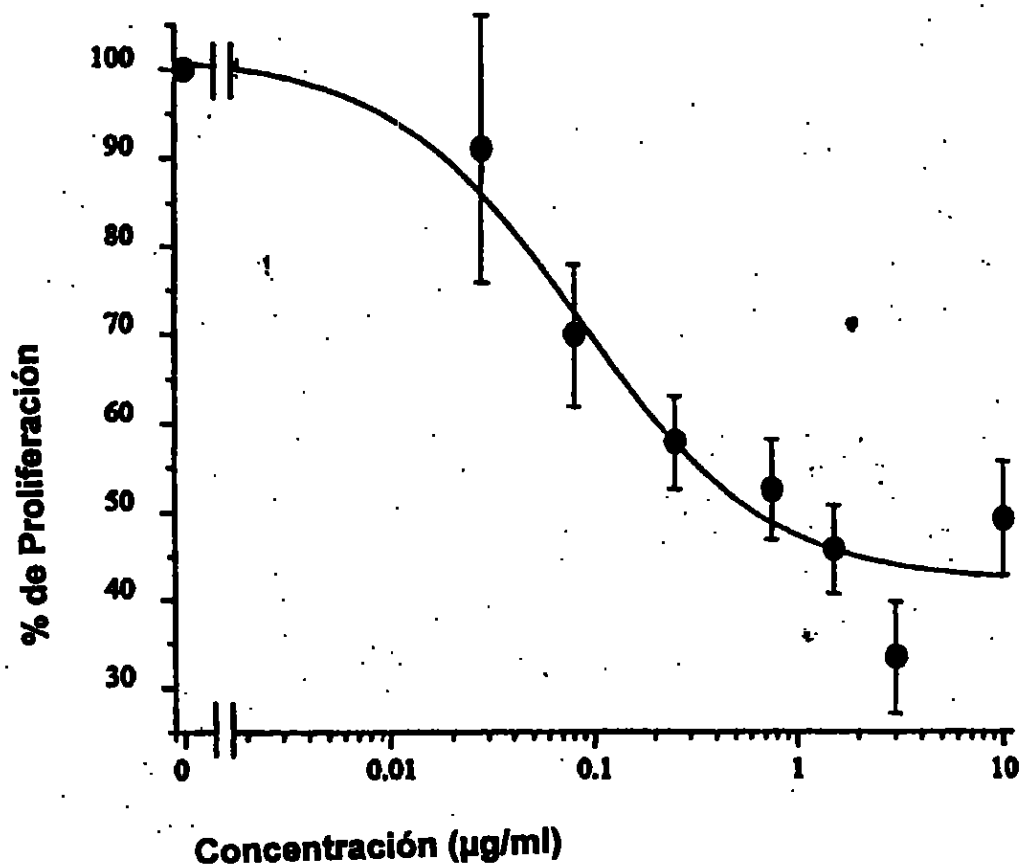


Figura 2/5

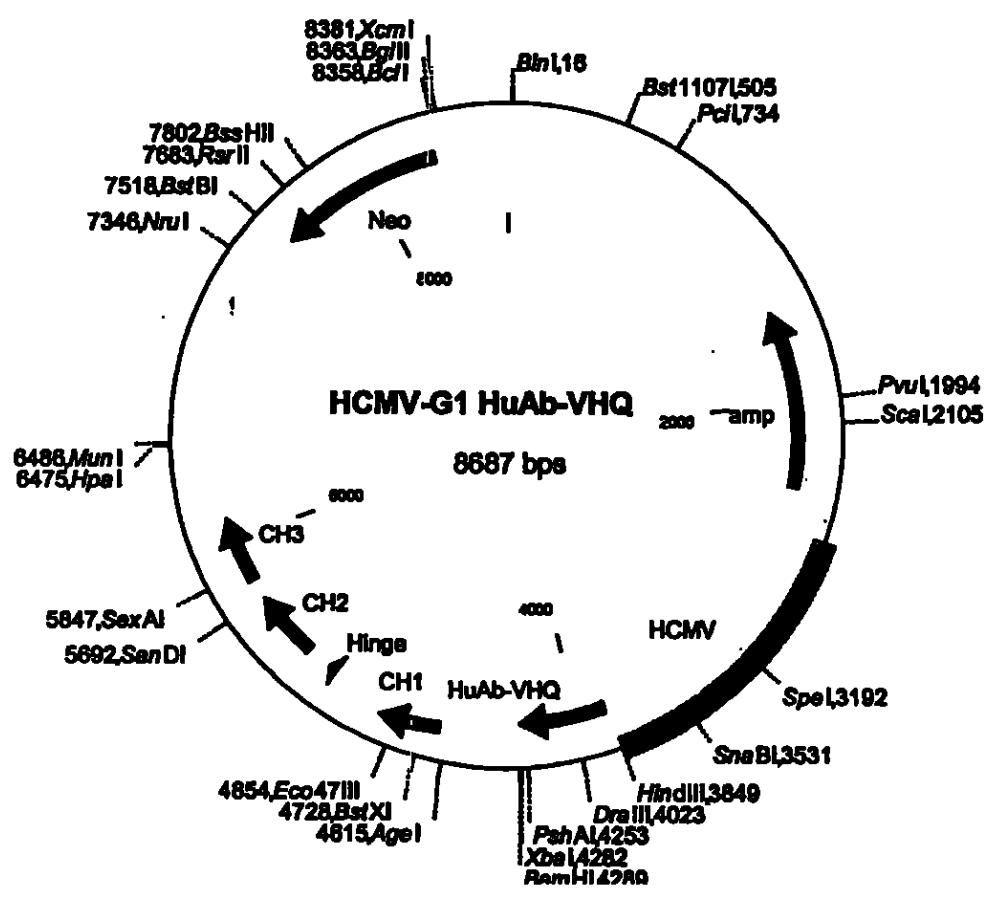


Figura 3/5

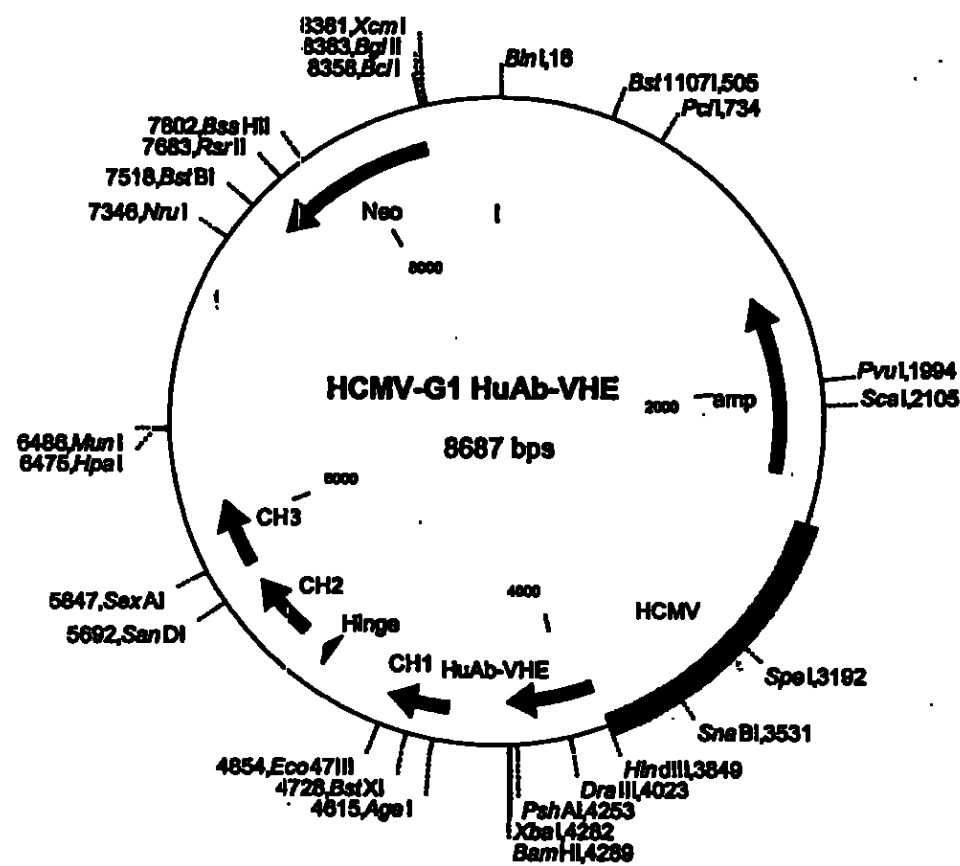
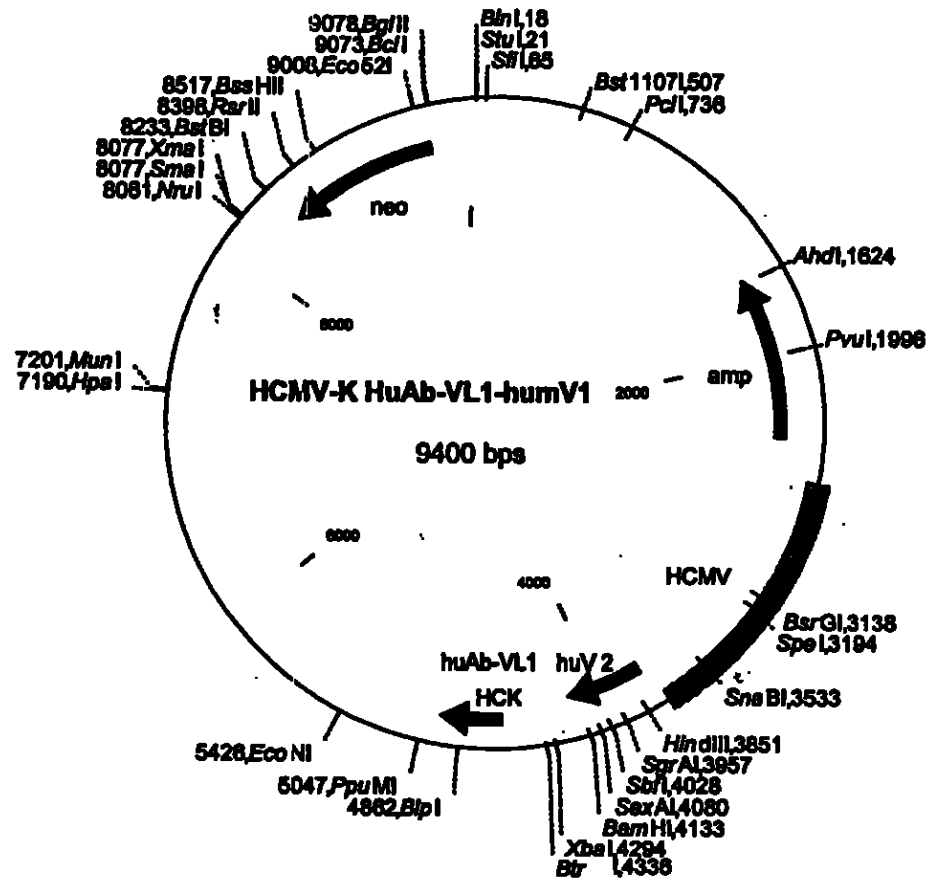


Figura 4/5



Restriction Sites (Enzyme, Position in bp):

- 9040, *Bgl*II
- 9035, *Bcl*I
- 8970, *Eco*52I
- 8479, *Bss*HI
- 8360, *Rsr*II
- 8195, *Bst*BI
- 8039, *Xma*I
- 8039, *Sma*I
- 8023, *Nru*I
- 7163, *Mun*I
- 7152, *Hpa*I
- 5388, *Eco*NI
- 5009, *Pvu*MI
- 4824, *Bsp*I
- 4256, *Xba*I
- 4298, *Bst*I
- 3990, *Sbf*I
- 3919, *Sgr*AI
- 3851, *Hind*III
- 3533, *Sna*BI
- 3194, *Spe*I
- 3138, *Bsr*GI
- 1998, *Pvu*I
- 1624, *Aha*I
- 1507, *Bst*I
- 1738, *Pci*I
- 118, *Bln*I
- 21, *Stu*I
- 65, *Sfi*I

Other Labels:

- neo
- amp
- HCMV
- HuAb-VL1 huV2
- HCK
- 9362 bps

- 1 -

Therapeutic binding molecules**Field of the invention**

5 The present invention relates to organic compounds, such as to binding molecules against CD45 antigen isoforms, such as for example monoclonal antibodies (mAbs).

Background of the invention

10 One approach in the treatment of a variety of diseases is to achieve the elimination or the inactivation of pathogenic leukocytes and the potential for induction of tolerance to inactivate pathological immune responses.

Organ, cell and tissue transplant rejection and the various autoimmune diseases are thought to be primarily the result of T-cell mediated immune response triggered by helper T-cells which are capable of recognizing specific antigens which are captured, processed and presented to the helper T cells by antigen presenting cell (APC) such as macrophages and dendritic cells, in the form of an antigen-MHC complex, i.e. the helper T-cell when recognizing specific antigens is stimulated to produce cytokines such as IL-2 and to express or upregulate some cytokine receptors and other activation molecules and to proliferate.

20 Some of these activated helper T-cells may act directly or indirectly, i.e. assisting effector cytotoxic T-cells or B cells, to destroy cells or tissues expressing the selected antigen. After the termination of the immune response some of the mature clonally selected cells remain as memory helper and memory cytotoxic T-cells, which circulate in the body and rapidly recognize the antigen if appearing again. If the antigen triggering this response is an innocuous environmental antigen the result is allergy, if the antigen is not a foreign antigen, but a self antigen, it can result in autoimmune disease; if the antigen is an antigen from a transplanted organ, the result can be graft rejection.

25

30 The immune system has developed to recognize self from non-self. This property enables an organism to survive in an environment exposed to the daily challenges of pathogens. This specificity for non-self and tolerance towards self arises during the development of the T cell repertoire in the thymus through processes of positive and negative selection, which also comprise the recognition and elimination of autoreactive T cells. This type of tolerance is

- 2 -

referred to as central tolerance. However, some of these autoreactive cells escape this selective mechanism and pose a potential hazard for the development of autoimmune diseases. To control the autoreactive T cells that have escaped to the periphery, the immune system has peripheral regulatory mechanisms that provide protection against autoimmunity.

5 These mechanisms are a basis for peripheral tolerance.

Cell surface antigens recognized by specific mAbs are generally designated by a CD (Cluster of Differentiation) number assigned by successive International Leukocyte Typing workshops and the term CD45 applied herein refers to the cell surface leukocyte common antigen CD45; and an mAb to that antigen is designated herein as "anti-CD45".

The leukocyte common antigen (LCA) or CD45 is the major component of anti-lymphocyte globulin (ALG). CD45 belongs to the family of transmembrane tyrosine phosphatases and is both a positive and negative regulator of cell activation, depending upon receptor interaction.

15 The phosphatase activity of CD45 appears to be required for activation of Src-family kinases associated with antigen receptor of B and T lymphocytes (Trowbridge IS et al, Annu Rev Immunol. 1994; 12:85-116). Thus, in T cell activation, CD45 is essential for signal 1 and CD45-deficient cells have profound defects in TCR-mediated activation events.

20 The CD45 antigen exists in different isoforms comprising a family of transmembrane glycoproteins. Distinct isoforms of CD45 differ in their extracellular domain structure which arise from alternative splicing of 3 variable exons coding for part of the CD45 extracellular region (Streuli MF. et al, J. Exp. Med. 1987; 166:1548-1566). The various isoforms of CD45 have different extra-cellular domains, but have the same transmembrane and cytoplasmic

25 segments having two homologous, highly conserved phosphatase domains of approximately 300 residues. Different isoform combinations are differentially expressed on subpopulations of T and B lymphocytes (Thomas ML. et al, Immunol. Today 1988; 9:320-325). Some monoclonal antibodies recognize an epitope common to all the different isoforms, while other mAbs have a restricted (CD45R) specificity, dependent on which of the alternatively spliced

30 exons (A, B or C) they recognize. For example, monoclonal antibodies recognizing the product of exon A are consequently designated CD45RA, those recognizing the various isoforms containing exon B have been designated CD45RB (Beverley PCL et al, Immunol. Supp. 1988; 1:3-5). Antibodies such as UCHL1 selectively bind to the 180 kDa isoform CD45RO (without any of the variable exons A, B or C) which appears to be restricted to a

- 3 -

subset of activated T cells, memory cells and cortical thymocytes and is not detected on B cells (Terry LA et al, Immunol. 1988; 64:331-336).

Description of the Figures

5

Figure 1 shows that the inhibition of primary MLR by the "candidate mAb" is dose-dependent in the range of 0.001 and 10 µg/ml. "Concentration" is concentration of the "candidate mAb".

Figure 2 shows the plasmid map of the expression vector HCMV-G1 HuAb-VHQ comprising the heavy chain having the nucleotide sequence SEQ ID NO:12 (3921-4274) in the complete expression vector nucleotide sequence SEQ ID NO:15.

Figure 3 shows the plasmid map of the expression vector HCMV-G1 HuAb-VHE comprising the heavy chain having the nucleotide sequence SEQ ID NO:11 (3921-4274) in the complete expression vector nucleotide sequence SEQ ID NO:16.

Figure 4 shows the plasmid map of the expression vector HCMV-K HuAb-humV1 comprising the light chain having the nucleotide sequence SEQ ID NO:14 (3964-4284) in the complete expression vector nucleotide sequence SEQ ID NO:17.

Figure 5 shows the plasmid map of the expression vector HCMV-K HuAb-humV2 comprising the light chain having the nucleotide sequence SEQ ID NO:13 (3926-4246) in the complete expression vector nucleotide sequence SEQ ID NO:18.

20

Description of the Invention

We have now found a binding molecule which comprises a polypeptide sequence which binds to CD45RO and CD45RB, hereinafter also designated as a "CD45RO/RB binding molecule". These binding molecule according to the invention may induce immunosuppression, inhibit primary T cell responses and induce T cell tolerance. Furthermore, the binding molecules of the invention inhibit primary mixed lymphocyte responses (MLR). Cells derived from cultures treated with CD45RO/RB binding molecules preferably also have impaired proliferative responses in secondary MLR even in the absence of CD45RO/RB binding molecules in the secondary MLR. Such impaired proliferative responses in secondary MLR are an indication of the ability of binding molecules of the invention to induce tolerance. Additionally, *in vivo* administration of CD45RO/RB binding molecule to severe combined immunodeficiency (SCID) mice undergoing xeno-GVHD following injection with human PBMC may prolong mice survival, compared to control

- 4 -

treated mice, even though circulating human T cells may still be detected in CD45RO/RB binding molecule treated mice.

By "CD45RO/RB binding molecule" is meant any molecule capable of binding specifically to the CD45RB and CD45RO isoforms of the CD45 antigen, either alone or associated with other molecules. The binding reaction may be shown by standard methods (qualitative assay) including for example any kind of binding assay such as direct or indirect immunofluorescence together with fluorescence microscopy or cytofluorimetric (FACS) analysis, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) or radioimmunoassay in which binding of the molecule to cells expressing a particular CD45 isoform can be visualized. In addition, the binding of this molecule may result in the alteration of the function of the cells expressing these isoforms. For example inhibition of primary or secondary mixed lymphocyte response (MLR) may be determined, such as an *in vitro* assay or a bioassay for determining the inhibition of primary or secondary MLR in the presence and in the absence of a CD45RO/RB binding molecule and determining the differences in primary MLR inhibition.

Alternatively, the *in vitro* functional modulatory effects can also be determined by measuring the PBMC or T cells or CD4⁺ T cells proliferation, production of cytokines, change in the expression of cell surface molecules e.g. following cell activation in MLR, or following stimulation with specific antigen such as tetanus toxoid or other antigens, or with polyclonal stimulators such as phytohemagglutinin (PHA) or anti-CD3 and anti-CD28 antibodies or phorbol esters and Ca²⁺ ionophores. The cultures are set up in a similar manner as described for MLR except that instead of allogeneic cells as stimulators soluble antigen or polyclonal stimulators such as those mentioned above are used. T cell proliferation is measured preferably as described above by ³H-thymidine incorporation. Cytokine production is measured preferably by sandwich ELISA where a cytokine capture antibody is coated on the surface of a 96-well plate, the supernatants from the cultures are added and incubated for 1 hr at room temperature and a detecting antibody specific for the particular cytokine is then added, following a second-step antibody conjugated to an enzyme such as Horseradish peroxidase followed by the corresponding substrate and the absorbance is measured in a plate reader. The change in cell surface molecules may be preferably measured by direct or indirect immunofluorescence after staining the target cells with antibodies specific for a particular cell surface molecule. The antibody can be either

- 5 -

directly labeled with flouochrome or a fluorescently labeled second step antibody specific for the first antibody can be used, and the cells are analysed with a cytofluorimeter.

5 The binding molecule of the invention has a binding specificity for both CD45RO and CD45RB ("CD45RB/RO binding molecule").

Preferably the binding molecule binds to CD45RO Isoforms with a dissociation constant (Kd) <15nM, more preferably with a Kd<10nM, most preferably with a Kd<5nM. Preferably the binding molecule binds to CD45RB Isoforms with a Kd<15nM, more preferably with a Kd<10nM, most preferably with a Kd<5nM.

10

In a further preferred embodiment the binding molecule of the invention binds those CD45 Isoforms which

- 1) include the A and B epitopes but not the C epitope of the CD45 molecule; and/or
- 2) include the B epitope but not the A and not the C epitope of the CD45 molecule; and/or
- 15 3) Isoforms which do not include any of the A, B or C epitopes of the CD45 molecule.

In yet a further preferred embodiment the binding molecule of the invention does not bind CD45 Isoforms which include

- 1) all of the the A, B and C epitopes of the CD45 molecule; and/or
- 20 2) both the B and C epitopes but not the A epitope of the CD45 molecule.

In further preferred embodiments the binding molecule of the invention further

- 1) recognises memory and in vivo alloactivated T cells; and/or
- 2) binds to its target on human T cells, such as for example PEER cells; wherein said
- 25 binding preferably is with a Kd<15nM, more preferably with a Kd<10nM, most preferably with a Kd<5nM; and/or
- 3) inhibits in vitro alloreactive T cell function, preferably with an IC₅₀ of about 5nM, more preferably with an IC₅₀ of about 1nM, most preferably with an IC₅₀ of about 0,5nM or even 0,1nM; and/or
- 30 4) induces alloantigen-specific T cell tolerance in vitro; and/or

- 6 -

5) prevents lethal xenogeneic graft versus host disease (GvHD) induced in SCID mice by injection of human PBMC when administered in an effective amount.

5 In a further preferred embodiment the binding molecule of the invention binds to the same epitope as the monoclonal antibody "A6" as described by Aversa et al., Cellular Immunology 158, 314-328 (1994).

Due to the above-described binding properties and biological activities, such binding molecules of the invention are particularly useful in medicine, for therapy and/or prophylaxis.

10 Diseases in which binding molecules of the invention are particularly useful include autoimmune diseases, transplant rejection, psoriasis, inflammatory bowel disease and allergies, as will be further set out below.

We have found that a molecule comprising a polypeptide of SEQ ID NO: 1 and a polypeptide of SEQ ID NO: 2 is a CD45RO/RB binding molecule. We also have found the hypervariable regions CDR1', CDR2' and CDR3' in a CD45RO/RB binding molecule of SEQ ID NO:1, CDR1' having the amino acid sequence Arg-Ala-Ser-Gln-Asn-Ile-Gly-Thr-Ser-Ile-Gln (RASQNIGTSIQ), CDR2' having the amino acid sequence Ser-Ser-Ser-Glu-Ser-Ile-Ser (SSSESIS) and CDR3' having the amino acid sequence Gln-Gln-Ser-Asn-Thr-Trp-Pro-Phe-Thr (QQSNTWPFT).

15
20

We also have found the hypervariable regions CDR1, CDR2 and CDR3 in a CD45RO/RB binding molecule of SEQ ID NO:2, CDR1 having the amino acid sequence Asn-Tyr-Ile-Ile-His (NYIIH), CDR2 having the amino acid sequence Tyr-Phe-Asn-Pro-Tyr-Asn-His-Gly-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-Lys-Gly (YFNPYNHGTTYNEKFKG) and CDR3 having the amino acid sequence Ser-Gly-Pro-Tyr-Ala-Trp-Phe-Asp-Thr (SGPYAWFDT).

25

CDRs are 3 specific complementary determining regions which are also called hypervariable regions which essentially determine the antigen binding characteristics. These CDRs are part of the variable region, e.g. of SEQ ID NO: 1 or SEQ ID NO: 2, respectively, wherein these CDRs alternate with framework regions (FR's) e.g. constant regions. A SEQ ID NO: 1 is part of a light chain, e.g. of SEQ ID NO: 3, and a SEQ ID NO:2 is part of a heavy chain, e.g. of SEQ ID NO: 4, in a chimeric antibody according to the present invention. The CDRs of a heavy chain together with the CDRs of an associated light chain essentially constitute

30

- 7 -

the antigen binding site of a molecule of the present invention. It is known that the contribution made by a light chain variable region to the energetics of binding is small compared to that made by the associated heavy chain variable region and that isolated heavy chain variable regions have an antigen binding activity on their own. Such molecules
5 are commonly referred to as single domain antibodies.

In one aspect the present invention provides a molecule comprising at least one antigen binding site, e.g. a CD45RO/RB binding molecule, comprising in sequence the hypervariable regions CDR1, CDR2 and CDR3, said CDR1 having the amino acid sequence Asn-Tyr-Ile-Ile-His (NYIIH), said CDR2 having the amino acid sequence Tyr-Phe-Asn-Pro-Tyr-Asn-His-Gly-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-Lys-Gly (YFNPYNHGTTYNEKFKG) and said CDR3
10 having the amino acid sequence Ser-Gly-Pro-Tyr-Ala-Trp-Phe-Asp-Thr (SGPYAWFDT); e.g. and direct equivalents thereof.

15 In another aspect the present invention provides a molecule comprising at least one antigen binding site, e.g. a CD45RO/RB binding molecule, comprising
a) a first domain comprising in sequence the hypervariable regions CDR1, CDR2 and CDR3, said CDR1 having the amino acid sequence Asn-Tyr-Ile-Ile-His (NYIIH), said CDR2 having the amino acid sequence Tyr-Phe-Asn-Pro-Tyr-Asn-His-Gly-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-Lys-Gly (YFNPYNHGTTYNEKFKG) and said CDR3 having the amino acid
20 sequence Ser-Gly-Pro-Tyr-Ala-Trp-Phe-Asp-Thr (SGPYAWFDT); and
b) a second domain comprising in sequence the hypervariable regions CDR1', CDR2' and CDR3', CDR1' having the amino acid sequence Arg-Ala-Ser-Gln-Asn-Ile-Gly-Thr-Ser-Ile-Gln (RASQNIQTSLQ), CDR2' having the amino acid sequence Ser-Ser-Ser-Glu-Ser-Ile-Ser (SSSESIS) and CDR3' having the amino acid sequence Gln-Gln-Ser-Asn-Thr-Trp-Pro-Phe-Thr (QQSNTWPFT),
25 e.g. and direct equivalents thereof.

In a preferred embodiment the first domain comprising in sequence the hypervariable regions CDR1, CDR2 and CDR3 is an immunoglobulin heavy chain, and the second domain comprising in sequence the hypervariable regions CDR1', CDR2' and CDR3' is an
30 immunoglobulin light chain.

- 8 -

In another aspect the present invention provides a molecule, e.g. a CD45RO/RB binding molecule, comprising a polypeptide of SEQ ID NO: 1 and/or a polypeptide of SEQ ID NO: 2, preferably comprising in one domain a polypeptide of SEQ ID NO: 1 and in another domain a polypeptide of SEQ ID NO: 2, e.g. a chimeric monoclonal antibody, and in another aspect

5 A molecule, e.g. a CD45RO/RB binding molecule, comprising a polypeptide of SEQ ID NO: 3 and/or a polypeptide of SEQ ID NO: 4, preferably comprising in one domain a polypeptide of SEQ ID NO: 3 and in another domain a polypeptide of SEQ ID NO: 4, e.g. a chimeric monoclonal antibody.

- 10 When the antigen binding site comprises both the first and second domains or a polypeptide of SEQ ID NO: 1 or SEQ ID NO:3, respectively, and a polypeptide of SEQ ID NO: 2 or of SEQ ID NO:4, respectively, these may be located on the same polypeptide, or, preferably each domain may be on a different chain, e.g. the first domain being part of an heavy chain, e.g. immunoglobulin heavy chain, or fragment thereof and the second domain being part of a
- 15 light chain, e.g. an immunoglobulin light chain or fragment thereof.

We have further found that a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention is a CD45RO/RB binding molecule in mammalian, e.g. human, body environment. A CD45RO/RB binding molecule according to the present invention can thus be designated

20 as a monoclonal antibody (mAb), wherein the binding activity is determined mainly by the CDR regions as described above, e.g. said CDR regions being associated with other molecules without binding specificity, such as framework, e.g. constant regions, which are substantially of human origin.

- 25 In another aspect the present invention provides a CD45RO/RB binding molecule which is not the monoclonal antibody "A6" as described by Aversa et al., Cellular Immunology 158, 314-328 (1994).

In another aspect the present invention provides a CD45RO/RB binding molecule according

30 to the present invention which is a chimeric, a humanised or a fully human monoclonal antibody.

Examples of a CD45RO/RB binding molecules include chimeric or humanised antibodies e.g. derived from antibodies as produced by B-cells or hybridomas and or any fragment

- 9 -

thereof, e.g. F(ab')₂ and Fab fragments, as well as single chain or single domain antibodies. A single chain antibody consists of the variable regions of antibody heavy and light chains covalently bound by a peptide linker, usually consisting of from 10 to 30 amino acids, preferably from 15 to 25 amino acids. Therefore, such a structure does not include the

5 constant part of the heavy and light chains and it is believed that the small peptide spacer should be less antigenic than a whole constant part. By a chimeric antibody is meant an antibody in which the constant regions of heavy and light chains or both are of human origin while the variable domains of both heavy and light chains are of non-human (e.g. murine) origin. By a humanised antibody is meant an antibody in which the hypervariable regions

10 (CDRs) are of non-human (e.g. murine) origin while all or substantially all the other part, e.g. the constant regions and the highly conserved parts of the variable regions are of human origins. A humanised antibody may however retain a few amino acids of the murine sequence in the parts of the variable regions adjacent to the hypervariable regions.

15 Hypervariable regions, i.e. CDR's according to the present invention may be associated with any kind of framework regions, e.g. constant parts of the light and heavy chains, of human origin. Suitable framework regions are e.g. described in "Sequences of proteins of Immunological interest", Kabat, E.A. et al, US department of health and human services, Public health service, National Institute of health. Preferably the constant part of a human

20 heavy chain may be of the IgG1 type, including subtypes, preferably the constant part of a human light chain may be of the κ or λ type, more preferably of the κ type. A preferred constant part of a heavy chain is a polypeptide of SEQ ID NO: 4 (without the CDR1', CDR2' and CDR3' sequence parts which are specified above) and a preferred constant part of a light chain is a polypeptide of SEQ ID NO: 3 (without the CDR1, CDR2 and CDR3 sequence

25 parts which are specified above).

We also have found a humanised antibody comprising a light chain variable region of amino acid SEQ ID NO:7 or of amino acid SEQ ID NO:8, which comprises CDR1', CDR2' and CDR3' according to the present invention and a heavy chain variable region of SEQ:ID NO:9

30 or of SEQ:ID NO:10, which comprises CDR1, CDR2 and CDR3 according to the present invention.

- 10 -

In another aspect the present invention provides a humanised antibody comprising a polypeptide of SEQ ID NO:9 or of SEQ ID NO:10 and a polypeptide of SEQ ID NO:7 or of SEQ ID NO:8.

- 5 In another aspect the present invention provides a humanised antibody comprising
- a polypeptide of SEQ ID NO:9 and a polypeptide of SEQ ID NO:7,
 - a polypeptide of SEQ ID NO:9 and a polypeptide of SEQ ID NO:8,
 - a polypeptide of SEQ ID NO:10 and a polypeptide of SEQ ID NO:7, or
 - a polypeptide of SEQ ID NO:10 and a polypeptide of SEQ ID NO:8.

10

A polypeptide according to the present invention, e.g. of a herein specified sequence, e.g. of CDR1, CDR2, CDR3, CDR1', CDR2', CDR3', or of a SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 or SEQ ID NO:10 includes direct equivalents of said (poly)peptide (sequence); e.g. including a functional derivative of

15 said polypeptide. Said functional derivative may include covalent modifications of a specified sequence, and/or said functional derivative may include amino acid sequence variants of a specified sequence.

"Polypeptide", if not otherwise specified herein, includes any peptide or protein comprising amino acids joined to each other by peptide bonds, having an amino acid sequence starting

20 at the N-terminal extremity and ending at the C-terminal extremity. Preferably the polypeptide of the present invention is a monoclonal antibody, more preferred is a chimeric (V-grafted) or humanised (CDR-grafted) monoclonal antibody. The humanised (CDR-grafted) monoclonal antibody may or may not include further mutations introduced into the

25 framework (FR) sequences of the acceptor antibody.

A functional derivative of a polypeptide as used herein includes a molecule having a qualitative biological activity in common with a polypeptide to the present invention, i.e. having the ability to bind to CD45RO and CD45RB. A functional derivative includes

30 fragments and peptide analogs of a polypeptide according to the present invention. Fragments comprise regions within the sequence of a polypeptide according to the present invention, e.g. of a specified sequence. The term "derivative" is used to define amino acid sequence variants, and covalent modifications of a polypeptide according to the present invention. e.g. of a specified sequence. The functional derivatives of a polypeptide according

- 11 -

to the present invention, e.g. of a specified sequence, preferably have at least about 65%, more preferably at least about 75%, even more preferably at least about 85%, most preferably at least about 95% overall sequence homology with the amino acid sequence of a polypeptide according to the present invention, e.g. of a specified sequence, and
5 substantially retain the ability to bind to CD45RO and CD45RB.

The term "covalent modification" includes modifications of a polypeptide according to the present invention, e.g. of a specified sequence; or a fragment thereof with an organic proteinaceous or non-proteinaceous derivatizing agent, fusions to heterologous polypeptide
10 sequences, and post-translational modifications. Covalent modified polypeptides, e.g. of a specified sequence, still have the ability bind to CD45RO and CD45RB by crosslinking. Covalent modifications are traditionally introduced by reacting targeted amino acid residues with an organic derivatizing agent that is capable of reacting with selected sides or terminal residues, or by harnessing mechanisms of post-translational modifications that function in
15 selected recombinant host cells. Certain post-translational modifications are the result of the action of recombinant host cells on the expressed polypeptide. Glutaminyl and asparaginyl residues are frequently post-translationally deamidated to the corresponding glutamyl and aspartyl residues. Alternatively, these residues are deaminated under mildly acidic conditions. Other post-translational modifications include hydroxylation of proline and lysine,
20 phosphorylation of hydroxyl groups of seryl, tyrosine or threonyl residues, methylation of the α -amino groups of lysine, arginine, and histidine side chains, see e.g. T. E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W. H. Freeman & Co., San Francisco, pp. 79-86 (1983). Covalent modifications e.g. include fusion proteins comprising a polypeptide according to the present invention, e.g. of a specified sequence and their amino acid
25 sequence variants, such as immunoadhesins, and N-terminal fusions to heterologous signal sequences.

"Homology" with respect to a native polypeptide and its functional derivative is defined herein as the percentage of amino acid residues in the candidate sequence that are identical with
30 the residues of a corresponding native polypeptide, after aligning the sequences and introducing gaps, if necessary, to achieve the maximum percent homology, and not considering any conservative substitutions as part of the sequence identity. Neither N- or C-terminal extensions nor insertions shall be construed as reducing identity or homology. Methods and computer programs for the alignment are well known.

"Amino acid(s)" refer to all naturally occurring L- α -amino acids, e.g. and including D-amino acids. The amino acids are identified by either the well known single-letter or three-letter designations.

- 5 The term "amino acid sequence variant" refers to molecules with some differences in their amino acid sequences as compared to a polypeptide according to the present invention, e.g. of a specified sequence. Amino acid sequence variants of a polypeptide according to the present invention, e.g. of a specified sequence, still have the ability to bind to CD45RO and CD45RB. Substitutional variants are those that have at least one amino acid residue
- 10 removed and a different amino acid inserted in its place at the same position in a polypeptide according to the present invention, e.g. of a specified sequence. These substitutions may be single, where only one amino acid in the molecule has been substituted, or they may be multiple, where two or more amino acids have been substituted in the same molecule. Insertional variants are those with one or more amino acids inserted immediately adjacent to
- 15 an amino acid at a particular position in a polypeptide according to the present invention, e.g. of a specified sequence. Immediately adjacent to an amino acid means connected to either the α -carboxy or α -amino functional group of the amino acid. Deletional variants are those with one or more amino acids in a polypeptide according to the present invention, e.g. of a specified sequence, removed. Ordinarily, deletional variants will have one or two amino acids
- 20 deleted in a particular region of the molecule.

We also have found the polynucleotide sequences of

- GGCCAGTCAGAACATTGGCACAAGCATACAGTG, encoding the amino acid sequence of CDR1,
- 25 - TTCTTCTGAGTCTATCTCTGG; encoding the amino acid sequence of CDR 2,
- ACAAAGTAATACCTGGCCATTACGTT encoding the amino acid sequence of CDR 3,
- TTATATTATCCACTG, encoding the amino acid sequence of CDR1',
- TTTTAATCCTTACAATCATGGTACTAAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAG encoding the amino acid sequence of CDR2',
- 30 AGGACCCTATGCCTGGTTTGACACCTG encoding the amino acid sequence of CDR3',
- SEQ ID NO:5 encoding a polypeptide of SEQ ID NO: 1, i.e. the variable region of a light chain of an mAb according to the present invention;
- SEQ ID NO:6 encoding a polypeptide of SEQ ID NO:2, i.e. the variable region of the heavy chain of an mAb according to the present invention;

- 13 -

- SEQ ID NO:11 encoding a polypeptide of SEQ ID NO:9, i.e. a heavy chain variable region including CDR1, CDR2 and CDR3 according to the present invention;
 - SEQ ID NO:12 encoding a polypeptide of SEQ ID NO:10, i.e. a heavy chain variable region including CDR1, CDR2 and CDR3 according to the present invention;
 - 5 - SEQ ID NO:13 encoding a polypeptide of SEQ ID NO:7, i.e. a light chain variable region including CDR1', CDR2' and CDR3' according to the present invention; and
 - SEQ ID NO:14 encoding a polypeptide of SEQ ID NO:8, i.e. a light chain variable region including CDR1', CDR2' and CDR3' according to the present invention.
- 10 In another aspect the present invention provides isolated polynucleotides comprising polynucleotides encoding a CD45RO/RB binding molecule, e.g. encoding the amino acid sequence of CDR1, CDR2 and CDR3 according to the present invention and/or, preferably and, polynucleotides encoding the amino acid sequence of CDR1', CDR2' and CDR3' according to the present invention; and
- 15 Polynucleotides comprising a polynucleotide of SEQ ID NO: 5 and/or, preferably and, a polynucleotide of SEQ ID NO: 6; and
- Polynucleotides comprising polynucleotides encoding a polypeptide of SEQ ID NO:7 or SEQ ID NO:8 and a polypeptide of SEQ ID NO:9 or SEQ ID NO:10; e.g. encoding
- a polypeptide of SEQ ID NO:7 and a polypeptide of SEQ ID NO:9,
 - 20 - a polypeptide of SEQ ID NO:7 and a polypeptide of SEQ ID NO:10,
 - a polypeptide of SEQ ID NO:8 and a polypeptide of SEQ ID NO:9, or
 - a polypeptide of SEQ ID NO:8 and a polypeptide of SEQ ID NO:10; and
- Polynucleotides comprising a polynucleotide of SEQ ID NO:11 or of SEQ ID NO:12 and a polynucleotide of SEQ ID NO:13 or a polynucleotide of SEQ ID NO:14, preferably
- 25 comprising
- a polynucleotide of SEQ ID NO:11 and a polynucleotide of SEQ ID NO:13,
 - a polynucleotide of SEQ ID NO:11 and a polynucleotide of SEQ ID NO:14,
 - a polynucleotide of SEQ ID NO:12 and a polynucleotide of SEQ ID NO:13, or
 - a polynucleotide of SEQ ID NO:12 and a polynucleotide of SEQ ID NO:14.
- 30 "Polynucleotide", if not otherwise specified herein, includes any polyribonucleotide or polydeoxyribonucleotide, which may be unmodified RNA or DNA, or modified RNA or DNA, including without limitation single and double stranded RNA, and RNA that is a mixture of single- and double-stranded regions.

A polynucleotide according to the present invention, e.g. a polynucleotide encoding the amino acid sequence CDR1, CDR2, CDR3, CDR1', CDR2', CDR3', or of SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 or SEQ ID NO:10, respectively, such as a polynucleotide of SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13 or SEQ ID NO:14, respectively, includes allelic variants thereof and/or their complements; e.g. including a polynucleotide that hybridizes to the nucleotide sequence of SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13 or SEQ ID NO:14, respectively; e.g. encoding a polypeptide having at least 80% identity to SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 or SEQ ID NO:10, respectively, e.g. including a functional derivative of said polypeptide, e.g. said functional derivative having at least 65% homology with SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 or SEQ ID NO:10, respectively, e.g. said functional derivative including covalent modifications of SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 or SEQ ID NO:10, respectively, e.g. said functional derivative including amino acid sequence variants of SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 or SEQ ID NO:10, respectively; e.g. a SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13 or SEQ ID NO:14, respectively includes a sequence, which as a result of the redundancy (degeneracy) of the genetic code, also encodes a polypeptide of SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 or SEQ ID NO:10, respectively, or encodes a polypeptide with an amino acid sequence which has at least 80% identity with the amino acid sequence of SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 or SEQ ID NO:10, respectively.

A CD45RO/RB binding molecule, e.g. which is a chimeric or humanised antibody, may be produced by recombinant DNA techniques. Thus, one or more DNA molecules encoding the CD45RO/RB may be constructed, placed under appropriate control sequences and transferred into a suitable host (organism) for expression by an appropriate vector.

In another aspect the present invention provides a polynucleotide which encodes a single, heavy and/or a light chain of a CD45RO/RB binding molecule according to the present

- 15 -

Invention; and the use of a polynucleotide according to the present invention for the production of a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention by recombinant means.

- 5 A CD45RO/RB binding molecule may be obtained according, e.g. analogously, to a method as conventional together with the information provided herein, e.g. with the knowledge of the amino acid sequence of the hypervariable or variable regions and the polynucleotide sequences encoding these regions. A method for constructing a variable domain gene is e.g. described in EP 239 400 and may be briefly summarized as follows: A gene encoding a
- 10 variable region of a mAb of whatever specificity may be cloned. The DNA segments encoding the framework and hypervariable regions are determined and the DNA segments encoding the hypervariable regions are removed. Double stranded synthetic CDR cassettes are prepared by DNA synthesis according to the CDR and CDR' sequences as specified herein. These cassettes are provided with sticky ends so that they can be ligated at junctions
- 15 of a desired framework of human origin. Polynucleotides encoding single chain antibodies may also be prepared according to, e.g. analogously, to a method as conventional. A polynucleotide according to the present invention thus prepared may be conveniently transferred into an appropriate expression vector.
- 20 Appropriate cell lines may be found according, e.g. analogously, to a method as conventional. Expression vectors, e.g. comprising suitable promotor(s) and genes encoding heavy and light chain constant parts are known e.g. and are commercially available. Appropriate hosts are known or may be found according, e.g. analogously, to a method as conventional and include cell culture or transgenic animals.
- 25 In another aspect the present invention provides an expression vector comprising a polynucleotide encoding a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention, e.g. of sequence SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17 or SEQ ID NO:18.
- 30 In another aspect the present invention provides
- An expression system comprising a polynucleotide according to the present invention wherein said expression system or part thereof is capable of producing a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention, when said expression system or part thereof is present in a compatible host cell;

- 16 -

and

- An isolated host cell which comprises an expression system as defined above.

We have further found that a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention inhibit primary alloimmune responses in a dose-dependent fashion as determined by in vitro MLR. The results indicate that the cells which had been alloactivated in the presence of a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention are impaired in their responses to alloantigen. This confirms the indication that a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention can act directly on the effector alloreactive T cells and modulate their function. In addition, the functional properties of T cells derived from the primary MLR were further studied in restimulation experiments in secondary MLR, using specific stimulator cells or third-party stimulators to assess the specificity of the observed functional effects. We have found that the cells derived from primary MLRs in which a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention is present, were impaired in their ability to respond to subsequent optimal stimulation with specific stimulator cells, although there was no antibody added to the secondary cultures. The specificity of the inhibition was demonstrated by the ability of cells treated with a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention to respond normally to stimulator cells from unrelated third-party donors. Restimulation experiments using T cells derived from primary MLR cultures thus indicate that the cells which had been alloactivated a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention are hyporesponsive, i.e. tolerant, to the original alloantigen.

Furthermore we have found that cell proliferation in cells pre-treated with a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention could be rescued by exogenous IL-2. This indicates that treatment of alloreactive T cells with a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention induces a state of tolerance. Indeed, the reduced proliferative responses observed in cells treated with a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention, was due to impairment of T cell function, and these cells were able to respond to exogenous IL-2, indicating that these cells are in an anergic, true unresponsive state. The specificity of this response was shown by the ability of cells treated with a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention to proliferate normally to unrelated donor cells to the level of the control treated cells.

- 17 -

In addition experiments indicate that the binding of a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention to CD45RO and CD45RB may inhibit the memory responses of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from immunized donors to specific recall antigen. Binding of a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention to CD45RO and CD45RB thus is also effective in inhibiting memory responses to soluble Ag. The ability of a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention to inhibit recall responses to tetanus in PBMC from immunized donors indicate that the a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention is able to target and modulate the activation of memory T cells. E.g. these data indicate that a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention in addition to recognizing alloreactive and activated T cells is able to modulate their function, resulting in induction of T cell anergy. This property may be important in treatment of ongoing immune responses to autoantigens and allergens and possibly to alloantigens as seen in autoimmune diseases, allergy and chronic rejection, and diseases, such as psoriasis, inflammatory bowel disease, where memory responses play a role in the maintenance of disease state. It is believed to be an important feature in a disease situation, such as in autoimmune diseases in which memory responses to autoantigens may play a major role for the disease maintenance.

We have also found that a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention may modulate T cell proliferative responses in a mixed lymphocyte response (MLR) in vivo, i.e. a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention was found to have corresponding inhibitory properties in vivo testing.

A CD45RO/RB binding molecule according to the present invention may thus have immunosuppressive and tolerogenic properties and may be useful for in vivo and ex-vivo tolerance induction to alloantigens, autoantigens, allergens and bacterial flora antigens, e.g. a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention may be useful in the treatment and prophylaxis of diseases e.g. including autoimmune diseases, such as, but not limited to, rheumatoid arthritis, autoimmune thyroiditis, Graves disease, type I and type II diabetes, multiple sclerosis, systemic lupus erythematosus, Sjögren syndrome, scleroderma, autoimmune gastritis, glomerulonephritis, transplant rejection, e.g. organ and tissue allograft and xenograft rejection, graft versus host disease (GVHD), and also psoriasis, inflammatory bowel disease and allergies.

- 18 -

In another aspect the present invention provides the use of a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention as a pharmaceutical, e.g. in the treatment and prophylaxis of autoimmune diseases, transplant rejection, psoriasis, inflammatory bowel disease and allergies.

5

In another aspect the present invention provides a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention for the production of a medicament in the treatment and prophylaxis of diseases associated with autoimmune diseases, transplant rejection, psoriasis, inflammatory bowel disease and allergies.

10

In another aspect the present invention provides a pharmaceutical composition comprising a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention in association with at least one pharmaceutically acceptable carrier or diluent.

15 A pharmaceutical composition may comprise further, e.g. active, ingredients, e.g. other immunomodulatory antibodies such as, but not confined to anti-ICOS, anti-CD154, anti-CD134L or recombinant proteins such as, but not confined to rCTLA-4 (CD152), rOX40 (CD134), or immunomodulatory compounds such as, but not confined to cyclosporin A, FTY720, RAD, rapamycin, FK506, 15-deoxyspergualin, steroids.

20

In another aspect the present invention provides a method of treatment and/or prophylaxis of diseases associated with autoimmune diseases, transplant rejection, psoriasis, inflammatory bowel disease and allergies comprising administering to a subject in need of such treatment and/or prophylaxis an effective amount of a CD45RO/RB binding molecule according to the present invention, e.g. in the form of a pharmaceutical composition according to the present invention.

25

Autimmune diseases to be treated with binding molecule of the present invention further include, but are not limited to, rheumatoid arthritis, autoimmune thyroiditis, Graves disease, type I and type II diabetes, multiple sclerosis, systemic lupus erythematosus, Sjögren syndrome, scleroderma, autoimmune gastritis, glomerulonephritis; transplant rejection, e.g. organ and tissue allograft and xenograft rejection and graft-versus-host disease (GVHD).

30

EXAMPLES

The invention will be more fully understood by reference to the following examples. They
5 should not, however, be construed as limiting the scope of the invention. In the following
examples all temperatures are in degree Celsius.

The "candidate mAb" or "chimeric antibody" is a CD45RO/RB binding molecule according to
the present invention comprising light chain of SEQ ID NO:3 and heavy chain of SEQ ID
10 NO:4.

The following abbreviations are used:

- | | | |
|----|-------|-------------------------------------|
| | ELISA | enzyme linked immuno-sorbant assay |
| | FACS | fluorescence activated cell sorting |
| 15 | FITC | fluorescein isothiocyanate |
| | FBS | foetal bovine serum |
| | GVHD | graft-vs-host disease |
| | HCMV | human cytomegalovirus promoter |
| | IgE | immunoglobulin isotype E |
| 20 | IgG | immunoglobulin isotype G |
| | PBS | phosphate-buffered saline |
| | PCR | polymerase chain reaction |
| | xGVHD | xeno-graft-vs-host disease |

25

Example 1: Primary mixed lymphocyte response (MLR)***Cells***

- 5 Blood samples are obtained from healthy human donors. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) are isolated by centrifugation over Ficoll-Hypaque (Pharmacia LKB) from leukocytes from whole peripheral blood, leukopheresis or buffy coats with known blood type, but unknown HLA type. In some MLR experiments, PBMC are directly used as the stimulator cells after the irradiation at 40 Gy. In the other experiments, T cells were depleted from
- 10 PBMC by using CD2 or CD3 Dynabeads (Dyna, Oslo, Norway). Beads and contaminating cells are removed by magnetic field. T cell-depleted PBMC are used as stimulator cells after the irradiation.

- PBMC, CD3⁺ T cells or CD4⁺ T cells are used as the responder cells in MLR. Cells are prepared from different donors to stimulator cells. CD3⁺ T cells are purified by negative
- 15 selection using anti-CD16 mAb (Zymed, CA), goat anti-mouse IgG Dynabeads, anti-CD14 Dynabeads, CD19 Dynabeads. In addition anti-CD8 Dynabeads are used to purify CD4⁺ T cells. The cells obtained are analyzed by FACScan or FACSCalibur (Becton Dickinson & Co., CA) and the purity of the cells obtained was >75%. Cells are suspended in RPMI1640 medium, supplemented with 10 % heat-inactivated FBS, penicillin, streptomycin and L-
- 20 glutamine.

Reagents

- The chimeric anti-CD45R0/RB mAb "candidate mAb" and an isotype matched control chimeric antibody is also generated. Mouse (Human) control IgG₁ antibody specific for KLH
- 25 (keyhole limpet hemocyanin) or recombinant human IL-10 is purchased from BD Pharmingen (San Diego, CA). Anti-human CD154 mAb 5c8 is according to Lederman et al 1992.

Primary Mixed lymphocyte response (MLR)

- 30 Aliquots of 1×10^5 PBMC or 5×10^4 of CD3⁺ or CD4⁺ cells are mixed with 1×10^5 irradiated PBMC or 5×10^4 T cells-depleted irradiated (50 Gy) PBMC in the each well of 96-well culture plates (Costar, Cambridge, MA) in the presence of the indicated mAb or absence of Ab. In some experiments, F(ab')₂ fragment of goat anti-mouse Ig or goat anti-human Ig specific for

Fc portion (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) is added at 10 µg/ml in addition to the candidate mAb To ensure optimal in vitro cross-linking of the target CD45 molecules. The mixed cells are cultured for 4 or 5 days at 37°C in 5% CO₂ and proliferation is determined by pulsing the cells with ³H-thymidine for the last 16 - 20 hours of culture.

- 5 Other experiments are similar to those described above, but with the following exceptions: 1) Medium used is EX-VIVO (Bio-Whittaker) containing 10% FBS and 1% human plasma; 2) Anti-mouse total IgG (5 µg/ml) is used as secondary cross-linking step; 3) Irradiation of stimulator cells is 60 Gy.

- Primary MLR is performed in the presence of the "candidate mAb" or control chimeric IgG₁,
10 (10 µg/ml) both with a second step reagent, F(ab')₂ fragment of goat anti-human Ig specific for Fc portion (10 µg/ml). Percentage inhibition by the "candidate mAb" is calculated in comparison with the cell proliferation in the presence of control IgG₁. Results are shown in TABLE 1 below:

TABLE 1

- 15 Inhibition of primary MLR by 10 µg/ml of a candidate mAb according to the present invention

Responder	Stimulator (Irr. PBMC)	% of Inhibition
#211 CD4	#219 CD3	63.51
#220 CD4	#219 CD3 depl.	63.07
#227 CD4	#220 CD3 depl.	65.96
#229 CD4	#219 CD3 depl.	50.76
Average± SD		60.83 ±6.83 *

* Significantly different from control value (P<0.001)

A candidate mAb according to the present invention inhibits primary MLR as can be seen from TABLE 1. The average inhibitory effect is 60.83 ± 6.83 % in four different donors-
20 derived CD4⁺ T cells and statistically significant.

The inhibition of primary MLR by the "candidate mAb" is shown to be dose-dependent in the range of 0.001 and 10 µg/ml of the "candidate mAb" as shown in Figure 1.

- The IC₅₀ for the inhibition of primary MLR by a "candidate mAb" is determined from the results of three separate MLR experiments using one donor PBMC as responder cells. Thus,
25 responder CD4⁺ T cells from Donor #229 and #219 and irradiated PBMC depleted of T cells as stimulators are mixed in the presence of a "candidate mAb" or control chimeric Ab with 10 µg/ml of F(ab')₂ fragment of goat anti-human Ig. Experiments are repeated 3 times and percentage of proliferation in the presence of a "candidate mAb" is calculated in comparison

with the T cell proliferation in the presence of control Ab. IC₅₀ value is determined using Origin (V. 6.00®). The cellular activity IC₅₀ value is calculated to be 0.87 ± 0.35 nM (0.13 ± 0.052 µg/ml).

5 **Example 2: Secondary MLR**

In order to assess whether a "candidate mAb" induces unresponsiveness of CD4⁺ T cells to specific alloantigens, secondary MLR is performed in the absence of any antibodies after the primary MLC. CD4⁺ T cells are cultured with irradiated allogeneic stimulator cells (T cells-depleted PBMC) in the presence of the indicated antibody in 96-well culture plates for 10 days (primary MLC). Then, cells are collected, layered on a Ficoll-Hypaque gradient to remove dead cells, washed twice with RPMI, and restimulated with the same stimulator, 3rd party stimulator cells or IL-2 (50 U/ml). The cells are cultured for 3 days and the proliferative response is determined by pulsing the cells with ³H-thymidine for the last 16 - 20 hours of culture.

Specifically, CD4⁺ T cells are cultured with irradiated allogeneic stimulator cells (T cells-depleted PBMC taken from other donors) in the presence of 10 µg/ml of the "candidate mAb", control IgG1 chimeric Ab and F(ab')₂ fragment of goat anti-human Ig. Primary MLR proliferation is determined on day 5. For secondary MLR, the responder and stimulator cells are cultured for 10 days in the presence of the "candidate mAb", then the cells are harvested, washed twice in RPMI1640 and restimulated with specific stimulator, third-party stimulators or IL-2 (50 U/ml) in the absence of any Ab. Cell proliferation is determined on day 3. Results set out in TABLE 2:

TABLE 2

Responder CD4 ⁺ T cells Donor #	% Inhibition of 2 nd MLR
#211	49.90*
#220	59.33*
#227	58.68*

25 * Significantly different from control value (p<0.001 determined by t-test, SigmaStat V.2.03). # p<0.046

In order to test whether the impaired proliferation is due to unresponsiveness as a consequence of the treatment with a "candidate mAb", the cells derived from primary MLR are cultured in the presence of IL-2 (50 U/ml). Addition of IL-2 results in the rescue of

30

- 23 -

proliferative responses of the T cells which had been treated with a "candidate mAb" in primary MLR, to levels similar to those observed in the presence of IgG₁ control Ab. These data indicate that the impaired secondary response in T cells treated with a "candidate mAb" is due to functional alteration of the responder T cells which become unresponsive to the specific stimulator cells.

Percentage inhibition is calculated according to the following formula:

$$\frac{\text{c.p.m. with control Ab} - \text{c.p.m. with "candidate mAb"}}{\text{c.p.m. with control Ab}} \times 100$$

Statistical analysis is performed using SigmaStat (Vers. 2.03).

The data is analyzed by two-way ANOVA followed by Dunnett method. In all test procedures probabilities <0.05 are considered as significant. In some experiments t-test is used (SigmaStat V.2.03).

Example 3: In vivo survival studies in SCID-mice

Engraftment of hu-PBL in SCID mice

Human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) are injected intraperitoneally into SCID mice C.B 17 /GbmSTac-Prkdc^{scid} Lysf^{ps} mice (Taconic, Germantown, NY) in an amount sufficient to induce a lethal xenogeneic graft-versus-host disease (xGvHD) in >90% of the mice within 4 weeks after cell transfer. Such treated SCID mice are hereinafter designated as hu-PBL-SCID mice

Mab-treatment of hu-PBL-SCID mice

Hu-PBL-SCID mice are treated with a "candidate mAb" or mouse or chimeric isotype matched mAb controls at day 0, immediately after PBMC injection, at day 3, day 7 and at weekly intervals thereafter. Mabs are delivered subcutaneously in 100 µl PBS at a final concentration of 5 mg/kg body weight. The treatment was stopped when all control mice were dead.

Evaluation of treatment results

The main criterion to assess the efficacy of a "candidate mAb" in this study was the survival of the hu-PBL-SCID mice. The significance of the results is evaluated by the statistical

- 24 -

method of survival analysis using the Log-rank test (Mantel method) with the help of the Sysstat v9.01 software. The method of survival analysis is a non-parametric test, which not only consider whether a particular mouse is still alive but also whether if it was sacrificed for reasons irrelevant to the treatment/disease such as the requirement of perform in vitro analysis with its organs/cells. Biopsies of liver, lung, kidney and spleen are obtained from dead mice for further evaluation. In addition, hu-PBL-SCID mice are weighed at the beginning (before cell transfer) and throughout (every two days) the experiment as an indirect estimation of their health status. Linear regression lines were generated using the body weight versus days post-PBMC transfer values obtained from each mouse and subsequently, their slopes (control versus anti-CD45 treated mice) were compared using the non-parametric Mann-Whitney test.

Results

All hu-PBL-SCID mice treated with mouse mAb controls had infiltrated human leukocytes in the lung, liver and spleen and died (4/4) within ca. 2 to 3 weeks after cell transfer. Death is a likely consequence of xGvHD. Control mAb-treated mice furthermore lost weight in a linear manner, ca. 10% and more within 3 weeks.

All hu-PBL-SCID mice treated with a "candidate mAb" survived (4/4) without any apparent sign of disease more than 4 weeks, even although "candidate mAb"-treatment was stopped after 3 weeks. "Candidate mAb"-treated mice increased weight in a linear manner, up to ca. 5% within 4 weeks.

Example 4: Expression of antibodies of the invention

Expression of humanised antibody comprising a SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, or SEQ ID NO:10

Expression vectors according to the plasmid map shown in Figures 2 to 5 are constructed, comprising the corresponding nucleotides encoding the amino acid sequence of humanised light chain variable region humV1 (SEQ ID NO:7), humanised light chain variable region humV2 (SEQ ID NO:8), humanised heavy chain variable region VHE (SEQ ID NO:9), or humanised heavy chain variable region VHQ (SEQ ID NO:10), respectively. These expression vectors have the DNA (nucleotide) sequences SEQ ID NO 15, SEQ ID NO 16, SEQ ID NO 17, or SEQ ID NO 18, respectively.

Construction of humanised antibody heavy and light chain expression vectors**Human kappa light chain expression vectors for versions VLh and VLm**

In order to construct the final expression vector encoding for the complete humanised light chain of human kappa isotype, DNA fragments encoding the complete light chain variable regions (VLh and VLm) were excised from the VLh and VLm containing PCR-Script cloning vectors (Stratagene) (VLm region) using HindIII and BglII. The gel-purified fragments were then subcloned into the HindIII and BamHI sites of C21-HCMV Kappa expression vector which was created during construction of the humanised anti-IgE antibody TESC-21 (Kolbinger et al 1993) and which originally received from M. Bendig (MRC Collaborative Centre, London, UK) (Maeda et al. 1991). The ligation products were purified by phenol/chloroform extraction, and electroporated into electrocompetent Epicurian Coli® XL1-Blue strain (Cat. N° #200228, Stratagene). After plating on LB/amp agar plates overnight at 37°C, each 12 colonies were picked to prepare plasmid DNA from a 3 ml culture using the BioRobot 9600 (Qiagen). This yielded the light chain expression vectors for the humanised antibody versions VLh and VLm, respectively, as further described in the Figures.

Human gamma-1 heavy chain expression vectors for VHQ

For the construction of the VHQ expression vector, a step-wise approach was taken. First, the complete variable region of VHQ was assembled by PCR according to the methodology as described in Kolbinger et al 1993 (Protein Eng. 1993 Nov; 6(8):971-80) and subcloned into the C21-HCMV-gamma-1 expression from which the C21 Insert had been removed using the same enzymes. A HindIII/BamHI fragment of PCRScript clone VHQ containing the complete variable region was then subcloned into expression vector C21-HCMV-gamma-1 cleaved with the same enzymes. This yielded the final expression vector for the humanised antibody version VHQ.

Human gamma-1 heavy chain expression vectors for VHE

The construction of the final VHE expression vector encoding for the complete humanised heavy chain of human gamma-1 isotype was achieved by directly ligating a HindIII and

- 26 -

BamHI restricted PCR fragment encoding the variable region into the HindIII and BamHI sites of C21-HCMV gamma-1 expression vector which was created during construction of the humanised anti-IgE antibody TESC-21 (Kolbinger et al 1993) and which was also originally received from M. Bendig (MRC Collaborative Centre, London, UK) (Maeda et al. 5 1991).

Transient expression in COS cells

The following transfection protocol is adapted for adherent COS cells in 150 mm cell culture dishes, using SuperFect™ Transfection Reagent (Cat. N°301305, Qiagen). The four 10 different expression vectors described above are used for transient transfection of cells. For expression of humanised antibody, each of two clones containing heavy chain inserts (VHE or VHQ, respectively) are co-transfected into cells with each of the two clones encoding for the light chains (humV1 or humV2, respectively), in total 4 different combinations of heavy 15 and light chain expression vectors (VHE/humV1, VHE/humV2, VHQ/humV1 and VHQ/humV2). Before transfection, the plasmids are linearized with the restriction endonuclease PvuI which cleaves in the region encoding the resistance gene for ampicillin. The day before transfection, 4×10^6 COS cells in 30 ml of fresh culture medium are seeded in 150 mm cell culture dishes. Seeding at this cell density generally yielded 80% confluency 20 after 24 hours. On the day of transfection, four different combinations of linearized heavy- and light-chain DNA expression vectors (15 µg each) are diluted in a total volume of 900 µl of fresh medium without serum and antibiotics. 180 µl of SuperFect Transfection Reagent is then mixed thoroughly with the DNA solution. The DNA mixture is incubated for 10 min at room temperature to allow complex formation. While complex formation takes place, the 25 growth medium is removed from COS cell cultures, and cells are washed once with PBS. 9 ml of fresh culture medium (containing 10% FBS and antibiotics) are then added to each reaction tube containing the transfection complexes and well mixed. The final preparation is immediately transferred to each of 4 cultures to be transfected and gently mixed. Cell cultures are then incubated with the DNA complexes for 3 hours at 37°C and 5% CO₂. After 30 incubation, the medium containing transfection complexes is removed and replaced with 30 ml of fresh culture medium. At 48 hr post transfection, the culture supernatants are harvested.

Concentration of culture supernatants

- 27 -

For ELISA and FACS analysis, the culture supernatants collected from COS cells transfected with heavy- and light- chain plasmids are concentrated as follows. 10 ml of each supernatant are added to Centriprep YM-50 Centrifugal Filter Devices (Cat. N° 4310, Millipore) as described by the manufacturer. The Centriprep filters are centrifuged for 10 min at 3000 rpm at room temperature. The centrifugation step is then repeated again with the remaining 20 ml of supernatant using only 5 min of centrifugation and supervising the concentration evolution. The intermediate 500 µl of concentrated supernatant is recovered, transferred to new Microcon Centrifugal Filter Devices (Cat. N° 42412, Microcon) and further concentrated following the manufacturer's protocol. The concentrated supernatants are centrifuged four times for 24 min at 3000 rpm at room temperature, one time for 10 min at 6000 rpm and then, three times for 5 min, always supervising the concentration evolution. The final volume of concentrated conditioned medium achieved is 100-120 µl corresponding to a 250 to 300-fold concentration of original culture medium and is stored at 4°C until use. For comparison and control, culture medium from untransfected cells is similarly concentrated, using the same centrifugation protocol described above.

Example 5: Determination of recombinant human IgG expression by ELISA

To determine IgG concentrations of recombinant human antibody expressed in the culture supernatants, a sandwich ELISA protocol has been developed and optimized using human IgG as standard. Flat bottom 96-well microtiter plates (Cat. N° 4-39454, Nunc Immunoplate Maxisorp) are coated overnight at 4°C with 100 µl of goat anti-human IgG (whole molecule, Cat. N° I1011, SIGMA) at the final concentration of 0.5 µg/ml in PBS. Wells are then washed 3 times with washing buffer (PBS containing 0.05% Tween 20) and blocked for 1.5 hours at 37°C with blocking buffer (0.5% BSA in PBS). After 3 washing cycles, the antibody samples and the standard human IgG (Cat.No. I4506, SIGMA) are prepared by serial 1.5-fold dilution in blocking buffer. 100 µl of diluted samples or standard are transferred in duplicate to the coated plate and incubated for 1 hour at room temperature. After incubation, the plates are washed 3 times with washing buffer and subsequently incubated for 1 hour with 100 µl of horseradish peroxidase-conjugated goat anti-human IgG kappa-light chain (Cat. N° A-7164, SIGMA) diluted at 1/4000 in blocking buffer. Control wells received 100 µl of blocking buffer or concentrated normal culture medium. After washing, the colorimetric quantification of bound peroxidase in the sample and standard wells is performed, using a TMB Peroxidase EIA Substrate Kit (Cat. N° 172-1067, Bio-Rad) according to the manufacturer's instructions.

- 28 -

The peroxidase mixture is added at 100 µl per well and incubated for 30 min at room temperature in the dark. The colorimetric reaction is stopped by addition of 100 µl of 1 M sulfuric acid and the absorbance in each well is read at 450 nm, using an ELISA plate reader (Model 3350-UV, BioRad).

5

With a correlation coefficient of 0.998 for the IgG standard curve, the following concentrations are determined for the four different culture concentrates (ca. 250-300 fold concentrated):

- 10 VHE/humV1 supernatant = 8.26 µg/ml
VHE/humV2 supernatant = 6.27 µg/ml
VHQ/humV1 supernatant = 5.3 µg/ml
VHQ/humV2 supernatant = 5.56 µg/ml

15 **Example 6: FACS competition analysis (binding affinity)**

- The human T-cell line PEER is chosen as the target cell for FACS analysis because it expressed the CD45 antigen on its cell surface. To analyze the binding affinity of humanised antibody supernatants, competition experiments using FITC-labeled chimeric antibody as a reference are performed and compared with the inhibition of purified mouse antibody and of chimeric antibody. PEER cell cultures are centrifuged for 10 seconds at 3000 rpm and the medium is removed. Cells are resuspended in FACS buffer (PBS containing 1% FBS and 0.1% sodium azide) and seeded into 96-well round-bottom microtiter plate at a cell density of 1×10^5 cells per well. The plate is centrifuged and the supernatant is discarded. For blocking studies, 25 µl of concentrated untransfected medium or isotype matched control antibody (negative controls), unlabeled mouse antibody or chimeric antibody (positive controls) as well as concentrated supernatant containing the various combinations of humanised antibody (samples), is first added in each well at the indicated concentrations in the text. After 1 hour of incubation at 4°C, PEER cells are washed with 200 µl of FACS buffer by centrifugation. Cells are subsequently incubated for 1 hour at 4°C with chimeric antibody conjugated with FITC in 25 µl of FACS buffer at the final concentration of 20 µg/ml. Cells are washed and resuspended in 300 µl of FACS buffer containing 2 µg/ml propidium iodide which allows gating of viable cells. The cell preparations are analyzed on a flow cytometer (FACSCalibur, Becton Dickinson).

- 29 -

FACS analysis indicates a dose-dependent blockade of fluorochrome-labeled chimeric antibody by the concentrated humanised antibody culture supernatants. No dose-dependent blockade of chimeric antibody binding is seen with the isotype matched control antibody, indicating that the blocking effect by the different humanised antibody combinations is epitope specific and that epitope specificity appears to be retained after the humanisation process.

Example 7: Biological activities of CD45RB/RO binding molecules

10 In this study, we have addressed whether CD45RB/RO binding chimeric antibody, when present in cultures of polyclonally activated primary human T cells (i) supports the differentiation of T cells with a characteristic Treg phenotype, (ii) prevents or enhances apoptosis following T cell activation, and (iii) affects expression of subset-specific antigens and receptors after restimulation.

15

CD45RB/RO binding chimeric antibody enhances cell death in polyclonally activated T cells

Primary T cells (mixture of CD4+ and CD8+ T subsets) were subjected to activation by anti-CD3 plus anti-CD28 mAb (200 ng/ml each) in the presence or absence (=control) of CD45RB/RO binding chimeric antibody. Excess antibodies were removed by washing on day 2. 7-amino-actinomycin D (7-AAD) as a DNA-staining dye taken up by apoptotic and necrotic cells was used to measure cell death following activation. The results show that activation of T cells in the presence of CD45RB/RO binding chimeric antibody increased the fraction of 7-AAD positive cells than two-fold on day 2 after activation.. On day 7, the portion of 7-AAD positive cells was again similar in CD45RB/RO binding chimeric antibody-treated and control cultures.

25

CD45RB/RO binding chimeric antibody but not control mAb treated T cells display a T regulatory cell (Treg) phenotype

30 Increased expression of CD25 and the negative regulatory protein CTLA-4 (CD152) is a marker of Treg cells. Functional suppression of primary and secondary T cell responses by CD45RB/RO binding chimeric antibody may be due to the induction of Treg cells. To address this issue, T cells were activated by anti-CD3 + CD28 mAbs and cultured in the presence of CD45RB/RO binding chimeric antibody or anti-LPS control mAb. The time

- 30 -

course of CTLA-4 and CD25 expression reveals marked differences between controls and CD45RB/RO binding chimeric antibody-treated T cells on days 1 and 3 after secondary stimulation.

5 Intracellular CTLA-4 expression is sustained in the presence of CD45RB/RO binding chimeric antibody

It has been reported that substantial amounts of CTLA-4 can also be found intracellularly. Therefore, in parallel to surface CTLA-4 staining, intracellular CTLA-4 expression was analyzed. Moderate differences between T cell cultures were seen on day 4 after stimulation.

- 10 After prolonged culture, however, high levels of intracellular CTLA-4 were sustained only in CD45RB/RO binding chimeric antibody-treated but not in control T cells.

CD45RB/RO binding chimeric antibody -treated T cells become double positive for CD4 and CD8

- 15 Following stimulation, T cells induce and upregulate the expression of several surface receptors, such as CD25, CD152 (CTLA-4), CD154 (CD40-Ligand) and others. In contrast, the level of expression of CD4 or CD8 is thought to stay relatively constant. We reproducibly observed a strong increase of both CD4 and CD8 antigens on CD45RB/RO binding chimeric antibody-treated but not on control Ab-treated T cells after activation. The emergence of a
- 20 CD4/CD8 double-positive T cell population seems to be due to the upregulation of CD4 on the CD8+ subset and conversely, CD8 on the CD4+ subset. This contrasts with a moderately low percentage of double positive T cells in control cultures.

25 High IL-2 receptor alpha-chain, but very low beta-chain expression by CD45RB/RO binding chimeric antibody-treated T cells

- Treg cells are known to be constitutively positive for CD25, the IL-2 receptor alpha-chain. The regulation of other subunits of the trimeric IL-2 receptor on Treg cells is not known. Recently we have compared the expression of the beta-chain of IL-2 receptor, e.g. CD122, on T cells activated and propagated in the presence or absence of CD45RB/RO binding
- 30 chimeric antibody. The results show that CD45RB/RO binding chimeric antibody-treated T cells have about ten-fold lower CD122 expression as compared to T cells in control cultures. This difference may indicate that Treg cells require factors other than IL-2 to proliferate.

Example 8: Sequences of the invention (CDR sequences of the invention are underlined)

5 SEQ ID NO:1

Part of the amino acid sequence of chimeric light chain

DILLTQSPAILSVSPGERVSVFSC⁷⁰RASQNIGTSIQWYQ⁷⁴QRTNGSP⁷⁸RLIR⁸²SSSESISGIPSRFSG
SGSGTDFTLSINSVESEDIADYYC⁸⁶QQSNTWP⁹⁰FTFGSGTKLEIK

10 SEQ ID NO:2

Part of the amino acid sequence of chimeric heavy chain

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFT³⁰NYIIHWVKQEPGQGLEWIGYFNPYNHG³⁴TKY
NEKFKGRATLTADKSSNTAYMDLSSLTSEDSAIYYCARSGPYAWFDTWGQGT³⁸TVTVSS

15 SEQ ID NO:3

Amino acid sequence of chimeric light chain

DILLTQSPAILSVSPGERVSVFSC⁷⁰RASQNIGTSIQWYQ⁷⁴QRTNGSP⁷⁸RLIR⁸²SSSESISGIPSRFSG
SGSGTDFTLSINSVESEDIADYYC⁸⁶QQSNTWP⁹⁰FTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK
GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
20 KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:4

Amino acid sequence of chimeric heavy chain

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFT³⁰NYIIHWVKQEPGQGLEWIGYFNPYNHG³⁴TKY
25 NEKFKGRATLTADKSSNTAYMDLSSLTSEDSAIYYCARSGPYAWFDTWGQGT³⁸TVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS
30 LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:5

Nucleotide sequence encoding a polypeptide of SEQ ID NO:1

- 32 -

GACATTCTGCTGACCCAGTCTCCAGCCATCCTGTCTGTGAGTCCAGGAGAAAGAGTCA
 GTTTCCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAACATTGGCACAAGCATACAGTGGTATCAACAAAGA
 ACAAATGGTTCTCCAAGGCTTCTCATAAGGTCTTCTTCTGAGTCTATCTCTGGGATCCCT
 5 TCCAGGTTTAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTACTCTTAGCATCAACAGTGTGGA
 GTCTGAAGATATTGCAGATTATTACTGTCAACAAAGTAATACCTGGCCATTACGTTCCG
 CTCGGGGACCAAGCTTGAAATCAAA

SEQ ID NO:6

10 **Nucleotide sequence encoding a polypeptide of SEQ ID NO:2**

GAGGTGCAGCTGCAGCAGTCAGGACCTGAACTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAG
 ATGTCCTGCAAGGCCTCTGGATACACATTCATAATTATATTATCCACTGGGTGAAGCA
 GGAGCCTGGTCAGGGCCTTGAATGGATTGGATATTTAATCCTTACAATCATGGTACTA
 15 AGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAGGGCCACACTAACTGCAGACAAATCCTCCAACACA
 GCCTACATGGACCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGATCTACTACTGTGCAA
 GATCAGGACCCTATGCCTGGTTTGACACCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC
 CTCA

20 **SEQ ID NO:7**

Part of amino acid sequence of humanised light chain designated humV2 (humV2 = VLm)

25 DILLTQSPAT LSLSPGERAT FSCRASQNIG TSIQWYQQKT NGAPRLLIRS SSESISGIPS
 RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ SNTWPETFFGQ GTKLEIK

SEQ ID NO:8

Part of amino acid sequence of humanised light chain designated humV1 (humV1 = VLh)

30

DILLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQNIG TSIQWYQQKP GQAPRLLIRS SSESISGIPS
 RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ SNTWPETFFGQ GTKLEIK

SEQ ID NO:9

Part of amino acid sequence of humanised heavy chain designated VHE

EVQLVESGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYIIHWVKQE PGQGLEWIGY
FNPYNHGTKY NEKFKGRATL TANKSISTAY MELSSLRSED TAVYYCARSG
5 PYAWFDTWGQ GTTVTVSS

SEQ ID NO:10

Part of amino acid sequence of humanised heavy chain designated VHQ

10 QVQLVESGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYIIHWVKQE PGQGLEWIGY
FNPYNHGTKY NEKFKGRATL TANKSISTAY MELSSLRSED TAVYYCARSG
PYAWFDTWGQ GTTVTVSS

SEQ ID NO:11

15 **Nucleotide sequence encoding amino acid sequence SEQ ID NO:9**

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCAGGAGCCGAAGTGAAAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAG
GTGTCCTGCAAGGCCTCTGGATACACATTCACTAATTATATTATCCACTGGGTGAAGCA
GGAGCCTGGTCAGGGCCTTGAATGGATTGGATATTTAATCCTTACAATCATGGTACTA
20 AGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAGGGCCACACTAACTGCAAACAAATCCATCAGCACA
GCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGCGCTCTGAGGACACTGCGGTCTACTACTGTGCAA
GATCAGGACCCTATGCCTGGTTTGACACCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC
CTCA

25 **SEQ ID NO:12**

Nucleotide sequence encoding amino acid sequence SEQ ID NO:10

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCAGGAGCCGAAGTGAAAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAG
GTGTCCTGCAAGGCCTCTGGATACACATTCACTAATTATATTATCCACTGGGTGAAGCA
30 GGAGCCTGGTCAGGGCCTTGAATGGATTGGATATTTAATCCTTACAATCATGGTACTA
AGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAGGGCCACACTAACTGCAAACAAATCCATCAGCACA
GCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGCGCTCTGAGGACACTGCGGTCTACTACTGTGCAA
GATCAGGACCCTATGCCTGGTTTGACACCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC
CTCA

- 34 -

SEQ ID NO:13**Nucleotide sequence encoding amino acid sequence SEQ ID NO:7**

5 GACATTCTGCTGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTCTGAGTCCAGGAGAAAGAGCCA
CTTTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAACATTGGCACAAGCATACAGTGGTATCAACAAAA
ACAAATGGTGCTCCAAGGCTTCTCATAAGGTCTTCTTCTGAGTCTATCTCTGGGATCCC
TTCCAGGTTTAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTACTCTTACCATCAGCAGTCTGG
AGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAACAAAGTAATACCTGGCCATTACAGTTC
10 GGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

SEQ ID NO:14**Nucleotide sequence encoding amino acid sequence SEQ ID NO:8**

15 GACATTCTGCTGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTCTGAGTCCAGGAGAAAGAGCCA
CTCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAACATTGGCACAAGCATACAGTGGTATCAACAAAA
CCAGGTCAGGCTCCAAGGCTTCTCATAAGGTCTTCTTCTGAGTCTATCTCTGGGATCCC
TTCCAGGTTTAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTACTCTTACCATCAGCAGTCTGG
AGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAACAAAGTAATACCTGGCCATTACAGTTC
20 GGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

SEQ ID NO:15**Nucleotide sequence of the expression vector HCMV-G1 HuAb-VHQ****(Complete DNA Sequence of a humanised heavy chain expression vector comprising****25 SEQ ID NO:12 (VHQ) from 3921-4274)**

1 AGCTTTTTC AAAAGCCTAG GCCTCCAAA AAGCCTCCTC ACTACTTCTG
51 GAATAGCTCA GAGGCCGAGG CGGCCTCGGC CTCTGCATAA ATAAAAAAA
101 TTAGTCAGCC ATGGGGCGGA GAATGGGCGG AACTGGGCGG AGTTAGGGGC
30 151 GGGATGGGCG GAGTTAGGGG CGGACTATG GTTGCTGACT AATTGAGATG
201 CATGCTTTC ATACTTCTGC CTGCTGGGGA GCCTGGTTGC TGACTAATTG
251 AGATGCATGC TTTGCATACT TCTGCCTGCT GGGGAGCCTG GGGACTTTCC
301 ACACCCTAAC TGACACACAT TCCACAGCTG CCTCGCGCGT TTCGGTGATG
351 ACGGTGAAAA CCTCTGACAC ATGCAGCTCC CGGAGACGGT CACAGCTTGT

- 35 -

401 CTGTAAGCGG ATGCCGGGAG CAGACAAGCC CGTCAGGGCG CGTCAGCGGG
 451 TGTGGCGGG TGTGGGGCG CAGCCATGAC CCAGTCACGT AGCGATAGCG
 501 GAGTGTATAC TGGCTTAACT ATGCGGCATC AGAGCAGATT GTACTGAGAG
 551 TGCACCATAT GCGGTGTGAA ATACCGCACA GATGCGTAAG GAGAAAATAC
 5 601 CGCATCAGGC GCTCTTCCGC TTCCTCGCTC ACTGACTCGC TGCCTCGGT
 651 CGTTCGGCTG CGGCGAGCGG TATCAGCTCA CTCAAAGGCG GTAATACGGT
 701 TATCCACAGA ATCAGGGGAT AACGCAGGAA AGAACATGTG AGCAAAAGGC
 751 CAGCAAAAGG CCAGGAACCG TAAAAGGCC GCGTTGCTGG CGTTTTTCCA
 801 TAGGCTCCGC CCCCTGACG AGCATCACAA AAATCGACGC TCAAGTCAGA
 10 851 GGTGGCGAAA CCCGACAGGA CTATAAGAT ACCAGGCGTT TCCCCCTGGA
 901 AGCTCCCTCG TCGCTCTCC TGTTCGACC CTGCCGCTTA CCGGATACCT
 951 GTCCGCCTTT CTCCCTTCGG GAAGCGTGGC GCTTCTCAT AGCTCACGCT
 1001 GTAGGTATCT CAGTTCGGTG TAGGTCGTTT GCTCCAAGCT GGGCTGTGTG
 1051 CACGAACCCC CCGTTCAGCC CGACCGCTGC GCCTTATCCG GTAAGTATCG
 15 1101 TCTTGAGTCC AACCCGGTAA GACACGACTT ATCGCCACTG GCAGCAGCCA
 1151 CTGGTAACAG GATTAGCAGA GCGAGGTATG TAGGCGGTGC TACAGAGTTC
 1201 TTGAAGTGGT GGCCTAACTA CGGCTACACT AGAAGGACAG TATTTGGTAT
 1251 CTGCGCTCTG CTGAAGCCAG TTACCTTCGG AAAAAGAGTT GGTAGCTCTT
 1301 GATCCGGCAA ACAAACCACC GCTGGTAGCG GTGGTTTTTT TGTTCGCAAG
 20 1351 CAGCAGATTA CGCGCAGAAA AAAAGGATCT CAAGAAGATC CTTTGATCTT
 1401 TTCTACGGGG TCTGACGCTC AGTGGAACGA AAATCACGT TAAGGGATTT
 1451 TGGTCATGAG ATTATCAAAA AGGATCTTCA CCTAGATCCT TTAAATTAA
 1501 AAATGAAGTT TTAAATCAAT CTAAAGTATA TATGAGTAAA CTTGGTCTGA
 1551 CAGTTACCAA TGCTTAATCA GTGAGGCACC TATCTCAGCG ATCTGTCTAT
 25 1601 TTCGTTATC CATAGTTGCC TGAATCCCCG TCGTGTAGAT AACTACGATA
 1651 CGGGAGGGCT TACCATCTGG CCCAGTGCT GCAATGATAC CGCGAGACCC
 1701 ACGCTCACCG GCTCCAGATT TATCAGCAAT AAACCAGCCA GCCGGAAGGG
 1751 CCGAGCGCAG AAGTGGTCCT GCAACTTTAT CCGCTCCAT CCAGTCTATT
 1801 AATTGTTGCC GGGAAGCTAG AGTAAGTAGT TCGCCAGTTA ATAGTTTGCG
 30 1851 CAACGTTGTT GCCATTGCTG CAGGCATCGT GGTGTCACGC TCGTCGTTTG
 1901 GTATGGCTTC ATTCAGCTCC GGTCCCAAC GATCAAGGCG AGTTACATGA
 1951 TCCCCATGT TGTGCAAAA AGCGGTTAGC TCCTTCGGTC CTCCGATCGT
 2001 TGTCAGAAAGT AAGTTGGCCG CAGTGTTATC ACTCATGGTT ATGGCAGCAC

- 36 -

2051 TGCATAATTC TCTTACTGTC ATGCCATCCG TAAGATGCTT TTCTGTGACT
2101 GGTGAGTACT CAACCAAGTC ATTCTGAGAA TAGTGTATGC GGCGACCGAG
2151 TTGCTCTTGC CCGGCGTCAA CACGGGATAA TACCGCGCCA CATAGCAGAA
2201 CTTTAAAAGT GCTCATCATT GGAAAACGTT CTTCCGGGCG AAAACTCTCA
5 2251 AGGATCTTAC CGCTGTTGAG ATCCAGTTCG ATGTAACCCA CTCGTGCACC
2301 CAACTGATCT TCAGCATCTT TTACTTTTAC CAGCGTTTCT GGGTGAGCAA
2351 AAACAGGAAG GCAAAATGCC GCAAAAAGG GAATAAGGGC GACACGGAAA
2401 TGTTGAATAC TCATACTCTT CCTTTTTCAA TATTATTGAA GCATTATATCA
2451 GGGTTATTGT CTCATGAGCG GATACATATT TGAATGTATT TAGAAAAATA
10 2501 AACAAATAGG GGTTCCGCGC ACATTTCCCC GAAAAGTGCC ACCTGACGTC
2551 TAAGAAACCA TTATTATCAT GACATTAAAC TATAAAAATA GGCGTATCAC
2601 GAGGCCCTTT CGTCTTCAAG AATTCAGCTT GGCTGCAGTG AATAATAAAA
2651 TGTGTGTTTG TCCGAAATAC GCGTTTTGAG ATTTCTGTGCG CCGACTAAAT
2701 TCATGTGCGC CGATAGTGGT GTTTATCGCC GATAGAGATG GCGATATTGG
15 2751 AAAAATCGAT ATTTGAAAAT ATGGCATATT GAAAATGTCG CCGATGTGAG
2801 TTTCTGTGTA ACTGATATCG CCATTTTTCC AAAAGTGATT TTTGGGCATA
2851 CGCGATATCT GCGGATAGCG CTTATATCGT TTACGGGGGA TGGCGATAGA
2901 CGACTTTGGT GACTTGGGCG ATTCTGTGTG TCGCAAATAT CGCAGTTTTCG
2951 ATATAGGTGA CAGACGATAT GAGGCTATAT CGCCGATAGA GGCGACATCA
20 3001 AGCTGGCACA TGGCCAATGC ATATCGATCT ATACATTGAA TCAATATTGG
3051 CCATTAGCCA TATTATTCAT TGGTTATATA GCATAAATCA ATATTGGCTA
3101 TTGGCCATTG CATACGTTGT ATCCATATCA TAATATGTAC ATTTATATTG
3151 GCTCATGTCC AACATTACCG CCATGTTGAC ATTGATTATT GACTAGTTAT
3201 TAATAGTAAT CAATTACGGG GTCATTAGTT CATAGCCCAT ATATGGAGTT
25 3251 CCGCGTTACA TAACTTACGG TAAATGGCCC GCCTGGCTGA CCGCCCAACG
3301 ACCCCCGCCC ATTGACGTCA ATAATGACGT ATGTTCCCAT AGTAACGCCA
3351 ATAGGGACTT TCCATTGACG TCAATGGGTG GAGTATTTAC GGTAAACTGC
3401 CCACTTGGCA GTACATCAAG TGTATCATAT GCCAAGTACG CCCCTATTG
3451 ACGTCAATGA CGGTAAATGG CCCGCCTGGC ATTATGCCCA GTACATGACC
30 3501 TTATGGGACT TTCCTACTTG GCAGTACATC TACGTATTAG TCATCGCTAT
3551 TACCATGGTG ATGCGGTTTT GGCAGTACAT CAATGGGCGT GGATAGCGGT
3601 TTGACTCACG GGGATTTCCA AGTCTCCACC CCATTGACGT CAATGGGAGT
3651 TTGTTTTGGC ACCAAAATCA ACGGGACTTT CAAAATGTC GTAACAACTC

- 37 -

3701 CGCCCCATTG ACGCAAATGG GCGGTAGGCG TGTACGGTGG GAGGTCTATA
3751 TAAGCAGAGC TCGTTTAGTG AACCGTCAGA TCGCCTGGAG ACGCCATCCA
3801 CGCTGTTTTG ACCTCCATAG AAGACACCGG GACCGATCCA GCCTCCGCAA
3851 GCTTGCCGCC ACCATGGACT GGACCTGGAG GGTGTTCTGC CTGCTGGCCG
5 3901 TGGCCCCCGG CGCCCACAGC CAGGTGCAGC TGGTGGAGTC AGGAGCCGAA
3951 GTGAAAAAGC CTGGGGCTTC AGTGAAGGTG TCCTGCAAGG CCTCTGGATA
4001 CACATTCACT AATTATATTA TCCACTGGGT GAAGCAGGAG CCTGGTCAGG
4051 GCCTTGAATG GATTGGATAT TTTAATCCTT ACAATCATGG TACTAAGTAC
4101 AATGAGAAAGT TCAAAGGCAG GGCCACACTA ACTGCAAACA AATCCATCAG
10 4151 CACAGCCTAC ATGGAGCTCA GCAGCCTGCG CTCTGAGGAC ACTGCGGTCT
4201 ACTACTGTGC AAGATCAGGA CCCTATGCCT GGTTCGACAC CTGGGGCCAA
4251 GGGACCACGG TCACCGTCTC CTCAGGTGAG TTCTAGAAGG ATCCCAAGCT
4301 AGCTTTCTGG GGCAGGCCAG GCCTGACCTT GGCTTTGGGG CAGGGAGGGG
4351 GCTAAGGTGA GGCAGGTGGC GCCAGCCAGG TGCACACCCA ATGCCCATGA
15 4401 GCCCAGACAC TGGACGCTGA ACCTCGCGGA CAGTTAAGAA CCCAGGGGCC
4451 TCTGCGCCCT GGGCCCAGCT CTGTCCCACA CCGCGGTCAC ATGGCACCAC
4501 CTCTCTTGCA GCCTCCACCA AGGGCCCATC GGTCTTCCCC CTGGCACCCT
4551 CCTCCAAGAG CACCTCTGGG GGCACAGCGG CCCTGGGCTG CCTGGTCAAG
4601 GACTACTTCC CCGAACCGGT GACGGTGTCTG TGGAACTCAG GCGCCCTGAC
20 4651 CAGCGGCGTG CACACCTTCC CGGCTGTCTT ACAGTCCTCA GGACTCTACT
4701 CCCTCAGCAG CGTGGTGACC GTGCCCTCCA GCAGCTTGGG CACCCAGACC
4751 TACATCTGCA ACGTGAATCA CAAGCCCAGC AACACCAAGG TGGACAAGAA
4801 AGTTGGTGAG AGGCCAGCAC AGGGAGGGAG GGTGTCTGCT GGAAGCCAGG
4851 CTCAGCGCTC CTGCCTGGAC GCATCCCGGC TATGCAGCCC CAGTCCAGGG
25 4901 CAGCAAGGCA GGCCCCGTCT GCCTCTTCAC CCGGAGGCCT CTGCCCCGCC
4951 CACTCATGCT CAGGGAGAGG GTCTTCTGGC TTTTCCCCA GGCTCTGGGC
5001 AGGCACAGGC TAGGTGCCCC TAACCCAGGC CCTGCACACA AAGGGGCAGG
5051 TGCTGGGCTC AGACCTGCCA AGAGCCATAT CCGGGAGGAC CCTGCCCCTG
5101 ACCTAAGCCC ACCCCAAAGG CCAAACCTC CACTCCCTCA GCTCGGACAC
30 5151 CTTCTCTCCT CCCAGATTCC AGTAACTCCC AATCTTCTCT CTGCAGAGCC
5201 CAAATCTTGT GACAAAATC ACACATGCCC ACCGTGCCCC GGTAAGCCAG
5251 CCCAGGCCTC GCCCTCCAGC TCAAGGCGGG ACAGGTGCCC TAGAGTAGCC
5301 TGCATCCAGG GACAGGCCCC AGCCGGGTGC TGACACGTCC ACCTCCATCT

- 38 -

5351 CTTCTCAGC ACCTGAACTC CTGGGGGGAC CGTCAGTCTT CCTCTTCCCC
 5401 CCAAAACCCA AGGACACCCT CATGATCTCC CGGACCCCTG AGGTCACATG
 5451 CGTGGTGGTG GACGTGAGCC ACGAAGACCC TGAGGTCAAG TTCAACTGGT
 5501 ACGTGGACGG CGTGGAGGTG CATAATGCCA AGACAAAGCC GCGGGAGGAG
 5 5551 CAGTACAACA GCACGTACCG TGTGGTCAGC GTCTTCACCG TCCTGCACCA
 5601 GGA CTGGCTG AATGGCAAGG AGTACAAGTG CAAGGTCTCC AACAAAGCCC
 5651 TCCCAGCCCC CATCGAGAAA ACCATCTCCA AAGCCAAAGG TGGGACCCGT
 5701 GGGGTGCGAG GGCCACATGG ACAGAGGCCG GCTCGGCCCA CCCTCTGCCC
 5751 TGAGAGTGAC CGCTGTACCA ACCTCTGTCC CTACAGGGCA GCCCCGAGAA
 10 5801 CCACAGGTGT ACACCCTGCC CCCATCCCGG GATGAGCTGA CCAAGAACCA
 5851 GGT CAGCCTG ACCTGCCTGG TCAAAGGCTT CTATCCCAGC GACATCGCCG
 5901 TGGAGTGGGA GAGCAATGGG CAGCCGGAGA ACAACTACAA GACCACGCCT
 5951 CCCGTGCTGG ACTCCGACGG CTCCTTCTTC CTCTACAGCA AGCTCACCGT
 6001 GGACAAGAGC AGGTGGCAGC AGGGGAACGT CTTCTCATGC TCCGTGATGC
 15 6051 ATGAGGCTCT GCACAACCAC TACACGCAGA AGAGCCTCTC CCTGTCTCCG
 6101 GGTAAATGAG TGC GACGGCC GGCAAGCCCC CGCTCCCCGG GCTCTCGCGG
 6151 TCGCAGGAGG ATGCTTGGCA CGTACCCCTT GTACATACTT CCCGGGCGCC
 6201 CAGCATGGAA ATAAAGCACC CAGCGCTGCC CTGGGCCCCCT GCGAGACTGT
 6251 GATGGTTCTT TCCACGGGTC AGGCCGAGTC TGAGGCCTGA GTGGCATGAG
 20 6301 ATCTGATATC ATCGATGAAT TCGAGCTCGG TACCCGGGGA TCGATCCAGA
 6351 CATGATAAGA TACATTGATG AGTTTGGACA AACCACAACT AGAATGCAGT
 6401 GAAAAAATG CTTTATTTGT GAAATTTGTG ATGCTATGTC TTTATTTGTA
 6451 ACCATTATAA GCTGCAATAA ACAAGTTAAC AACACAATT GCATTCAATT
 6501 TATGTTTCAG GTTCAGGGGG AGGTGTGGGA GGTTTTTTAA AGCAAGTAAA
 25 6551 ACCTCTACAA ATGTGGTATG GCTGATTATG ATCTCTAGTC AAGGCACTAT
 6601 ACATCAAATA TTCCTTATTA ACCCCTTTAC AAATTAAAAA GCTAAAGGTA
 6651 CACAATTTTT GAGCATAGTT ATTAATAGCA GACACTCTAT GCCTGTGTGG
 6701 AGTAAGAAAA AACAGTATGT TATGATTATA ACTGTTATGC CTACTTATAA
 6751 AGGTTACAGA ATATTTTTCC ATAATTTTCT TGTATAGCAG TGCAGCTTTT
 30 6801 TCCTTTGTGG TGTAATAGC AAAGCAAGCA AGAGTTCTAT TACTAAACAC
 6851 AGCATGACTC AAAAACTTA GCAATTCTGA AGGAAAGTCC TTGGGGTCTT
 6901 CTACCTTTCT CTTCTTTTTT GGAGGAGTAG AATGTTGAGA GTCAGCAGTA
 6951 GCCTCATCAT CACTAGATGG CATTTCTTCT GAGCAAAACA GGTTTTCTTC

- 39 -

7001 ATTAAAGGCA TTCCACCACT GCTCCCATTG ATCAGTTCCA TAGGTTGGAA
7051 TCTAAAATAC ACAAACAATT AGAATCAGTA GTTTAACACA TTATACACTT
7101 AAAAATTTTA TATTTACCTT AGAGCTTTAA ATCTCTGTAG GTAGTTTGTC
7151 CAATTATGTC ACACCACAGA AGTAAGGTTC CTTCACAAAG ATCCGGGACC
5 7201 AAAGCGGCCA TCGTGCCTCC CCACTCCTGC AGTTCGGGGG CATGGATGCG
7251 CGGATAGCCG CTGCTGGTTT CCTGGATGCC GACGGATTTG CACTGCCGGT
7301 AGAACTCCGC GAGGTCGTCC AGCCTCAGGC AGCAGCTGAA CCAACTCGCG
7351 AGGGGATCGA GCGCGGGGTG GCGAAGAAG TCCAGCATGA GATCCCCGCG
7401 CTGGAGGATC ATCCAGCCGG CGTCCCGGAA AACGATTCCG AAGCCCAACC
10 7451 TTTCATAGAA GCGCGCGGTG GAATCGAAAT CTCGTGATGG CAGGTTGGGC
7501 GTCGCTTGGT CGGTCATTTT GAACCCAGAG GTCCCGCTCA GAAGAACTCG
7551 TCAAGAAGGC GATAGAAGGC GATGCGCTGC GAATCGGGAG CGGCGATACC
7601 GTAAAGCACG AGGAAGCGGT CAGCCCATTG GCCGCCAAGC TCTTCAGCAA
7651 TATCACGGGT AGCCAACGCT ATGTCCTGAT AGCGGTCCGC CACACCCAGC
15 7701 CGGCCACAGT CGATGAATCC AGAAAAGCGG CCATTTTCCA CCATGATATT
7751 CGGCAAGCAG GCATCGCCAT GGGTCACGAC GAGATCCTCG CCGTCGGGCA
7801 TGCGCGCCTT GAGCCTGGCG AACAGTTCCG CTGGCGCGAG CCCCTGATGC
7851 TCTTCGTCCA GATCATCTTG ATCGACAAGA CCGGCTTCCA TCCGAGTACG
7901 TGCTCGCTCG ATGCGATGTT TCGCTTGGTG GTCGAATGGG CAGGTAGCCG
20 7951 GATCAAGCGT ATGCAGCCGC CGCATTCGAT CAGCCATGAT GGATACTTTC
8001 TCGGCAGGAG CAAGGTGAGA TGACAGGAGA TCCTGCCCCG GCACTTCGCC
8051 CAATAGCAGC CAGTCCCTTC CCGCTTCAGT GACAACGTCG AGCACAGCTG
8101 CGCAAGGAAC GCGCGTCGTG GCCAGCCACG ATAGCCGCGC TGCCTCGTCC
8151 TGCAGTTCAT TCAGGGCACC GGACAGGTCG GTCTTGACAA AAAGAACCGG
25 8201 GCGCCCCTGC GCTGACAGCC GGAACACGGC GGCATCAGAG CAGCCGATTG
8251 TCTGTTGTGC CCAGTCATAG CCGAATAGCC TCTCCACCCA AGCGGCCGGA
8301 GAACCTGCGT GCAATCCATC TTGTTCAATC ATGCGAAACG ATCCTCATCC
8351 TGTTCTTTGA TCAGATCTTG ATCCCCTGCG CCATCAGATC CTTGGCGGCA
8401 AGAAAGCCAT CCAGTTTACT TTGCAGGGCT TCCCAACCTT ACCAGAGGGC
30 8451 GCGCCAGCTG GCAATTCGGG TTCGCTTGCT GTCCATAAAA CCGCCAGTC
8501 TAGCTATCGC CATGTAAGCC CACTGCAAGC TACCTGCTTT CTCTTTGCGC
8551 TTGCGTTTTT CCTGTCCAG ATAGCCAGT AGCTGACATT CATCCGGGGT
8601 CAGCACCGTT TCTGCGGACT GGCTTTCTAC GTGTTCCGCT TCCTTTAGCA

8682

8651 GCCCTTGCGC CCTGAGTGCT TGCGGCAGCG TGAAGCT

SEQ ID NO:16

Nucleotide sequence of the expression vector HCMV-G1 HuAb-VHE

5 (Complete DNA Sequence of a humanised heavy chain expression vector comprising SEQ ID NO: 11 (VHE) from 3921-4274)

1 AGCTTTTTGC AAAAGCCTAG GCCTCCAAAA AAGCCTCCTC ACTACTTCTG
51 GAATAGCTCA GAGGCCGAGG CGGCCTCGGC CTCTGCATAA ATAAAAAAAAA
10 101 TTAGTCAGCC ATGGGGCGGA GAATGGGCGG AACTGGGCGG AGTTAGGGGC
151 GGGATGGGCG GAGTTAGGGG CGGGACTATG GTTGCTGACT AATTGAGATG
201 CATGCTTTGC ATACTTCTGC CTGCTGGGGA GCCTGGTTGC TGAATAATTG
251 AGATGCATGC TTTGCATACT TCTGCCTGCT GGGGAGCCTG GGGACTTTCC
301 ACACCCTAAC TGACACACAT TCCACAGCTG CCTCGCGCGT TTCGGTGATG
15 351 ACGGTGAAAA CCTCTGACAC ATGCAGCTCC CGGAGACGGT CACAGCTTGT
401 CTGTAAGCGG ATGCCGGGAG CAGACAAGCC CGTCAGGGCG CGTCAGCGGG
451 TGTTGGCGGG TGTCGGGGCG CAGCCATGAC CCAGTCACGT AGCGATAGCG
501 GAGTGTATAC TGGCTTAACT ATGCGGCATC AGAGCAGATT GTACTGAGAG
551 TGCACCATAT GCGGTGTGAA ATACCGCACA GATGCGTAAG GAGAAAATAC
20 601 CGCATCAGGC GCTCTTCCGC TTCCTCGCTC ACTGACTCGC TGCGCTCGGT
651 CGTTCGGCTG CGGCGAGCGG TATCAGCTCA CTCAAAGGCG GTAATACGGT
701 TATCCACAGA ATCAGGGGAT AACGCAGGAA AGAACATGTG AGCAAAAGGC
751 CAGCAAAAGG CCAGGAACCG TAAAAGGCC GCGTTGCTGG CGTTTTTCCA
801 TAGGCTCCGC CCCCTGACG AGCATCACA AAATCGACGC TCAAGTCAGA
25 851 GGTGGCGAAA CCGACAGGA CTATAAAGAT ACCAGGCGTT TCCCCCTGGA
901 AGCTCCCTCG TGCGCTCTCC TGFTCCGACC CTGCCGCTTA CCGGATACCT
951 GTCCGCCCTT CTCCCTTCGG GAAGCGTGGC GCTTTCTCAT AGCTCACGCT
1001 GTAGGTATCT CAGTTCGGTG TAGGTCGTTT GCTCCAAGCT GGGCTGTGTG
1051 CACGAACCCC CCGTTCAGCC CGACCGCTGC GCCTTATCCG GTAACTATCG
30 1101 TCTTGAGTCC AACCCGGTAA GACACGACTT ATCGCCACTG GCAGCAGCCA
1151 CTGGTAACAG GATTAGCAGA GCGAGGTATG TAGGCGGTGC TACAGAGTTC
1201 TTGAAGTGGT GGCCTAACTA CGGCTACACT AGAAGGACAG TATTTGGTAT
1251 CTGCGCTCTG CTGAAGCCAG TTACCTTCGG AAAAAGAGTT GGTAGCTCTT

- 41 -

1301 GATCCGGCAA ACAAACCACC GCTGGTAGCG GTGGTTTTTT TGTTCGCAAG
 1351 CAGCAGATTA CGCGCAGAAA AAAAGGATCT CAAGAAGATC CTTTGATCTT
 1401 TTCTACGGGG TCTGACGCTC AGTGGAACGA AAATCAGCT TAAGGGATTT
 1451 TGGTCATGAG ATTATCAAAA AGGATCTTCA CCTAGATCCT TTTAAATTAA
 5 1501 AAATGAAGTT TTAAATCAAT CTAAAGTATA TATGAGTAAA CTTGGTCTGA
 1551 CAGTTACCAA TGCTTAATCA GTGAGGCACC TATCTCAGCG ATCTGTCTAT
 1601 TTCGTTTATC CATAGTTGCC TGACTCCCCG TCGTGTAGAT AACTACGATA
 1651 CGGGAGGGCT TACCATCTGG CCCAGTGCT GCAATGATAC CGCGAGACCC
 1701 ACGCTCACC GCTCCAGATT TATCAGCAAT AAACCAGCCA GCCGGAAGGG
 10 1751 CCGAGCGCAG AAGTGGTCCT GCAACTTTAT CCGCCTCCAT CCAGTCTATT
 1801 AATTGTTGCC GGGAAGCTAG AATAAGTAGT TCGCCAGTTA ATAGTTTGCG
 1851 CAACGTTGTT GCCATTGCTG CAGGCATCGT GGTGTCACGC TCGTCGTTTG
 1901 GTATGGCTTC ATTCAGCTCC GGTTCCTAAC GATCAAGGCG AGTTACATGA
 1951 TCCCCCATGT TGTGCAAAAA AGCGGTTAGC TCCTTCGGTC CTCCGATCGT
 15 2001 TGTGAGAAGT AAGTTGGCCG CAGTGTATC ACTCATGGTT ATGGCAGCAC
 2051 TGCATAATTC TCTTACTGTC ATGCCATCCG TAAGATGCTT TTCTGTGACT
 2101 GGTGAGTACT CAACCAAGTC ATTCTGAGAA TAGTGTATGC GGCGACCGAG
 2151 TTGCTCTTGC CCGGCGTCAA CACGGGATAA TACCGCGCCA CATAGCAGAA
 2201 CTTTAAAGT GCTCATCATT GGAAAACGTT CTTCGGGGCG AAAACTCTCA
 20 2251 AGGATCTTAC CGCTGTTGAG ATCCAGTTCG ATGTAACCCA CTCGTGCACC
 2301 CAACTGATCT TCAGCATCTT TTACTTTTAC CAGCGTTTCT GGGTGAGCAA
 2351 AAACAGGAAG GCAAATGCC GCAAAAAGG GAATAAGGGC GACACGGAAA
 2401 TGTGAATAC TCATACTCTT CCTTTTTCAA TATTATTGAA GCATTTATCA
 2451 GGGTTATTGT CTCATGAGCG GATACATATT TGAATGTATT TAGAAAAATA
 25 2501 AACAAATAGG GGTCCGCGC ACATTTCCCC GAAAAGTGCC ACCTGACGTC
 2551 TAAGAAACCA TTATTATCAT GACATTAACC TATAAAAATA GCGGTATCAC
 2601 GAGGCCCTTT CGTCTTCAAG AATTCAGCTT GGCTGCAGTG AATAATAAAA
 2651 TGTGTGTTTG TCCGAAATAC GCGTTTTGAG ATTTCTGTG CCGACTAAAT
 2701 TCATGTCGCG CGATAGTGGT GTTTATCGCC GATAGAGATG GCGATATTGG
 30 2751 AAAAATCGAT ATTTGAAAAT ATGGCATATT GAAAATGTG CCGATGTGAG
 2801 TTTCTGTGTA ACTGATATCG CCATTTTCC AAAAGTGATT TTTGGGCATA
 2851 CGCGATATCT GCGGATAGCG CTTATATCGT TTACGGGGGA TGGCGATAGA
 2901 CGACTTTGGT GACTTGGGCG ATTCTGTGTG TCGCAAATAT CGCAGTTTCG

- 42 -

2951 ATATAGGTGA CAGACGATAT GAGGCTATAT CGCCGATAGA GGCGACATCA
3001 AGCTGGCACA TGGCCAATGC ATATCGATCT ATACATTGAA TCAATATTGG
3051 CCATTAGCCA TATTATTTCAT TGGTTATATA GCATAAATCA ATATTGGCTA
3101 TTGGCCATTG CATACGTTGT ATCCATATCA TAATATGTAC ATTTATATTG
5 3151 GCTCATGTCC AACATTACCG CCATGTTGAC ATTGATTATT GACTAGTTAT
3201 TAATAGTAAT CAATTACGGG GTCATTAGTT CATAGCCCAT ATATGGAGTT
3251 CCGCGTTACA TAACTTACGG TAAATGGCCC GCCTGGCTGA CCGCCCAACG
3301 ACCCCC GCCC ATTGACGTCA ATAATGACGT ATGTTCCCAT AGTAACGCCA
3351 ATAGGGACTT TCCATTGACG TCAATGGGTG GAGTATTTAC GGTAAGTGC
10 3401 CCACTTGGCA GTACATCAAG TGTATCATAT GCCAAGTACG CCCCTATTG
3451 ACGTCAATGA CGGTAAATGG CCCGCCTGGC ATTATGCCCC GTACATGACC
3501 TTATGGGACT TTCCTACTTG GCAGTACATC TACGTATTAG TCATCGCTAT
3551 TACCATGGTG ATGCGGTTTT GGCAGTACAT CAATGGGCGT GGATAGCGGT
3601 TTGACTCAGG GGGATTTCCA AGTCTCCACC CCATTGACGT CAATGGGAGT
15 3651 TTGTTTTGGC ACCAAAATCA ACGGGACTTT CAAAATGTC GTAACAACCT
3701 CGCCCCATTG ACGCAAATGG GCGGTAGGCG TGTACGGTGG GAGGTCTATA
3751 TAAGCAGAGC TCGTTTAGTG AACCGTCAGA TCGCCTGGAG ACGCCATCCA
3801 CGCTGTTTTG ACCTCCATAG AAGACACCGG GACCGATCCA GCCTCCGCAA
3851 GCTTGCCGCC ACCATGGACT GGACCTGGAG GGTGTTCTGC CTGCTGGCCG
20 3901 TGGCCCCCGG CGCCACAGC GAGGTGCAGC TGGTGGAGTC AGGAGCCGAA
3951 GTGAAAAGC CTGGGGCTTC AGTGAAGGTG TCCTGCAAGG CCTCTGGATA
4001 CACATTCACT AATTATATTA TCCACTGGGT GAAGCAGGAG CCTGGTCAGG
4051 GCCTTGAATG GATTGGATAT TTTAATCCTT ACAATCATGG TACTAAGTAC
4101 AATGAGAAGT TCAAAGGCAG GGCCACACTA ACTGCAAACA AATCCATCAG
25 4151 CACAGCCTAC ATGGAGCTCA GCAGCCTGCG CTCTGAGGAC ACTGCGGTCT
4201 ACTACTGTGC AAGATCAGGA CCCTATGCCT GGTGTTGACAC CTGGGGCCAA
4251 GGGACCACGG TCACCGTCTC CTCAGGTGAG TTCTAGAAGG ATCCCAAGCT
4301 AGCTTTCTGG GGCAGGCCAG GCCTGACCTT GGCTTTGGGG CAGGGAGGGG
4351 GCTAAGGTGA GGCAGGTGGC GCCAGCCAGG TGCACACCCA ATGCCCATGA
30 4401 GCCCAGACAC TGGACGCTGA ACCTCGCGGA CAGTTAAGAA CCCAGGGGCC
4451 TCTGCGCCCT GGGCCCAGCT CTGTCCACCA CCGCGGTCAC ATGGCACCAC
4501 CTCTCTTGCA GCCTCCACCA AGGGCCCATC GGTCTTCCCC CTGGCACCCT
4551 CCTCCAAGAG CACCTCTGGG GGCACAGCGG CCCTGGGCTG CCTGGTCAAG

- 43 -

4601 GACTACTTCC CCGAACCGGT GACGGTGTCTG TGGAACTCAG GCGCCCTGAC
4651 CAGCGGCGTG CACACCTTCC CGGCTGTCCT ACAGTCCTCA GGACTCTACT
4701 CCCTCAGCAG CGTGGTGACC GTGCCCTCCA GCAGCTTGGG CACCCAGACC
4751 TACATCTGCA ACGTGAATCA CAAGCCCAGC AACACCAAGG TGGACAAGAA
5 4801 AGTTGGTGAG AGGCCAGCAC AGGGAGGGAG GGTGTCTGCT GGAAGCCAGG
4851 CTCAGCGCTC CTGCCTGGAC GEATCCCGGC TATGCAGCCC CAGTCCAGGG
4901 CAGCAAGGCA GGCCCCGTCT GCCTCTTCAC CCGGAGGCCT CTGCCCGCCC
4951 CACTCATGCT CAGGGAGAGG GTCTTCTGGC TTTTTCCTCA GGCTCTGGGC
5001 AGGCACAGGC TAGGTGCCCC TAACCCAGGC CCTGCACACA AAGGGGCAGG
10 5051 TGCTGGGGCTC AGACCTGCCA AGAGCCATAT CCGGGAGGAC CCTGCCCCCTG
5101 ACCTAAGCCC ACCCCAAAGG CCAAACCTCTC CACTCCCTCA GCTCGGACAC
5151 CTTCTCTCCT CCCAGATTCC AGTAACTCCC AATCTTCTCT CTGCAGAGCC
5201 CAAATCTTGT GACAAAATC ACACATGCCC ACCGTGCTCA GGTAAGCCAG
5251 CCCAGGCCTC GCCCTCCAGC TCAAGGCGGG ACAGGTGCCC TAGAGTAGCC
15 5301 TGCATCCAGG GACAGGCCCC AGCCGGGTGC TGACACGTCC ACCTCCATCT
5351 CTTCTCAGC ACCTGAACTC CTGGGGGGAC CGTCAGTCTT CCTCTTCCCC
5401 CCAAAACCCA AGGACACCCT CATGATCTCC CGGACCCCTG AGGTACATG
5451 CGTGGTGGTG GACGTGAGCC ACGAAGACCC TGAGGTCAAG TTCAACTGGT
5501 ACGTGGACGG CGTGGAGGTG CATAATGCCA AGACAAAGCC GCGGGAGGAG
20 5551 CAGTACAACA GCACGTACCG TGTGGTCAGC GTCCTCACC GTCCTGACCA
5601 GGACTGGCTG AATGGCAAGG AGTACAAGTG CAAGGTCTCC AACAAAGCCC
5651 TCCCAGCCCC CATCGAGAAA ACCATCTCCA AAGCCAAAGG TGGGACCCGT
5701 GGGGTGCGAG GGCCACATGG ACAGAGGCCG GCTCGGCCCA CCCTCTGCCC
5751 TGAGAGTGAC CGCTGTACCA ACCTCTGTCC CTACAGGGCA GCCCCGAGAA
25 5801 CCACAGGTGT ACACCCTGCC CCCATCCCGG GATGAGCTGA CCAAGAACCA
5851 GGTCAGCCTG ACCTGCCTGG TCAAAGGCTT CTATCCCAGC GACATCGCCG
5901 TGGAGTGGGA GAGCAATGGG CAGCCGAGA ACAACTACAA GACCACGCCT
5951 CCCGTGCTGG ACTCCGACGG CTCCTTCTTC CTCTACAGCA AGCTCACCGT
6001 GGACAAGAGC AGGTGGCAGC AGGGGAACGT CTTCTCATGC TCCGTGATGC
30 6051 ATGAGGCTCT GCACAACCAC TACACGCAGA AGAGCCTCTC CCTGTCTCCG
6101 GGTAATGAG TCGACGGCC GGCAAGCCCC CGCTCCCCGG GCTCTCGCGG
6151 TCGCACGAGG ATGCTTGGCA CGTACCCCT GTACATACTT CCCGGGCGCC
6201 CAGCATGGAA ATAAAGCACC CAGCGCTGCC CTGGGCCCT GCGAGACTGT

- 44 -

6251 GATGGTTCTT TCCACGGGTC AGGCCGAGTC TGAGGCCTGA GTGGCATGAG
 6301 ATCTGATATC ATCGATGAAT TCGAGCTCGG TACCCGGGGA TCGATCCAGA
 6351 CATGATAAGA TACATTGATG AGTTTGGACA AACCACAACT AGAATGCAGT
 6401 GAAAAAATG CTTTATTTGT GAAATTTGTG ATGCTATTGC TTTATTTGTA
 5 6451 ACCATTATAA GCTGCAATAA ACAAGTTAAC AACACAATT GCATTCAATT
 6501 TATGTTTCAG GTTCAGGGGG AGGTGTGGGA GGTTTTTTAA AGCAAGTAAA
 6551 ACCTCTACAA ATGTGGTATG GCTGATTATG ATCTCTAGTC AAGGCACTAT
 6601 ACATCAAATA TTCCTTATTA ACCCCTTTAC AAATTAAAAA GCTAAAGGTA
 6651 CACAATTTTT GAGCATAGTT ATTAATAGCA GACACTCTAT GCCTGTGTGG
 10 6701 AGTAAGAAAA AACAGTATGT TATGATTATA ACTGTTATGC CTACTTATAA
 6751 AGGTTACAGA ATATTTTTCC ATAATTTTCT TGTATAGCAG TGCAGCTTTT
 6801 TCCTTTGTGG TGTAATAGC AAAGCAAGCA AGAGTTCTAT TACTAAACAC
 6851 AGCATGACTC AAAAACTTA GCAATTCTGA AGGAAAGTCC TTGGGGTCTT
 6901 CTACCTTTCT CTTCTTTTTT GGAGGAGTAG AATGTTGAGA GTCAGCAGTA
 15 6951 GCCTCATCAT CACTAGATGG CATTCTTCT GAGCAAAACA GGTTTTCCCTC
 7001 ATTAAAGGCA TTCCACCACT GCTCCCATT CAGTTCCA TAGGTTGGAA
 7051 TCTAAAATAC ACAAACAATT AGAATCAGTA GTTTAACACA TTATACACTT
 7101 AAAAATTTTA TATTTACCTT AGAGCTTTAA ATCTCTGTAG GTAGTTTGTC
 7151 CAATTATGTC ACACCACAGA AGTAAGGTTT CTTACAAAG ATCCGGGACC
 20 7201 AAAGCGGCCA TCGTGCCTCC CCACTCCTGC AGTTCGGGGG CATGGATGCC
 7251 CGGATAGCCG CTGCTGGTTT CCTGGATGCC GACGGATTTG CACTGCCGGT
 7301 AGAACTCCGC GAGGTCGTCC AGCCTCAGGC AGCAGCTGAA CCAACTCCGC
 7351 AGGGGATCGA GCCCCGGGTG GCGAAGAAC TCCAGCATGA GATCCCCGCG
 7401 CTGGAGGATC ATCCAGCCGG CGTCCCGGAA AACGATTCCG AAGCCCAACC
 25 7451 TTTCATAGAA GCGGCGGTG GAATCGAAAT CTCGTGATGG CAGGTTGGGC
 7501 GTCGCTTGGT CGGTCATTTT GAACCCAGAG GTCCCGCTCA GAAGAACTCG
 7551 TCAAGAAGGC GATAGAAGGC GATGCGCTGC GAATCGGGAG CGGCGATACC
 7601 GTAAAGCACG AGGAAGCGGT CAGCCCATTC GCCGCCAAGC TCTTCAGCAA
 7651 TATCACGGGT AGCCAACGCT ATGTCCTGAT AGCGGTCCGC CACACCCAGC
 30 7701 CGGCCACAGT CGATGAATCC AGAAAAGCGG CCATTTTCCA CCATGATATT
 7751 CGGCAAGCAG GCATCGCCAT GGGTCACGAC GAGATCCTCG CCGTCGGGCA
 7801 TGCGCGCCTT GAGCCTGGCG AACAGTTCCG CTGGCGCGAG CCCCTGATGC
 7851 TCTTCGTCCA GATCATCCTG ATCGACAAGA CCGGCTTCCA TCCGAGTACG

- 45 -

7901 TGCTCGCTCG ATGCGATGTT TCGCTTGGTG GTCGAATGGG CAGGTAGCCG
 7951 GATCAAGCGT ATGCAGCCGC CGCATTGCAT CAGCCATGAT GGATACTTTC
 8001 TCGGCAGGAG CAAGGTGAGA TGACAGGAGA TCCTGCCCCG GCACTTCGCC
 8051 CAATAGCAGC CAGTCCCTTC CCGCTTCAGT GACAACGTCG AGCACAGCTG
 5 8101 CGCAAGGAAC GCCCCTCGTG GCCAGCCACG ATAGCCGCGC TGCCTCGTCC
 8151 TGCAGTTCAT TCAGGGCACC GGACAGGTCG GTCTTGACAA AAAGAACCGG
 8201 GCGCCCCTGC GCTGACAGCC GGAACACGGC GGCATCAGAG CAGCCGATTG
 8251 TCTGTTGTGC CCAGTCATAG CCGAATAGCC TCTCCACCCA AGCGGCCGGA
 8301 GAACCTGCGT GCAATCCATC TTGTTCAATC ATGCGAAACG ATCCTCATCC
 10 8351 TGTCTCTTGA TCAGATCTTG ATCCCCTGCG CCATCAGATC CTTGGCGGCA
 8401 AGAAAGCCAT CCAGTTTACT TTGCAGGGCT TCCCAACCTT ACCAGAGGGC
 8451 GCCCCAGCTG GCAATTCCGG TTCGCTTGCT GTCCATAAAA CCGCCAGTC
 8501 TAGCTATCGC CATGTAAGCC CACTGCAAGC TACCTGCTTT CTCTTTGCGC
 8551 TTGCGTTTTT CCTTGTCAG ATAGCCAGT AGCTGACATT CATCCGGGGT
 15 8601 CAGCACCGTT TCTGCGGACT GGCTTTCTAC GTGTTCCGCT TCCTTTAGCA
 8651 GCCCTTGCGC CCTGAGTGCT TCGGCAGCG TGAAGCT

SEQ ID NO:17**Nucleotide sequence of the expression vector HCMV-K HuAb-VL1 hum V1**

20 **(Complete DNA Sequence of a humanised light chain expression vector comprising
 SEQ ID NO: 14 (humV1=VLh) from 3964-4284**

1 CTAGCTTTTT GCAAAGCCT AGGCCTCCAA AAAAGCCTCC TCACTACTTC
 51 TGGAATAGCT CAGAGGCCGA GCGGCCTCG GCCTCTGCAT AAATAAAAAA
 25 101 AATTAGTCAG CCATGGGGCG GAGAATGGGC GGAAGTGGGC GGAGTTAGGG
 151 GCGGGATGGG CGGAGTTAGG GCGGGGACTA TGGTTGCTGA CTAATTGAGA
 201 TGCATGCTTT GCATACTTCT GCCTGCTGGG GAGCCTGGTT GCTGACTAAT
 251 TGAGATGCAT GCTTTGCATA CTTCTGCCTG CTGGGGAGCC TGGGGACTTT
 301 CCACACCCTA ACTGACACAC ATTCCACAGC TGCCTCGCGC GTTTCGGTGA
 30 351 TGACGGTGAA AACCTCTGAC ACATGCAGCT CCCGGAGACG GTCACAGCTT
 401 GTCTGTAAGC GGATGCCGGG AGCAGACAAG CCCGTCAGGG CGCGTCAGCG
 451 GGTGTTGGCG GGTGTCGGGG CGCAGCCATG ACCCAGTCAC GTAGCGATAG
 501 CGGAGTGTAT ACTGGCTTAA CTATGCGGCA TCAGAGCAGA TTGTACTGAG

- 46 -

551 AGTGCACCAT ATGCGGTGTG AAATACCGCA CAGATGCGTA AGGAGAAAAT
601 ACCGCATCAG GCGCTCTTCC GCTTCCTCGC TCACTGACTC GCTGCGCTCG
651 GTCGTTCCGC TCGGGCGAGC GGTATCAGCT CACTCAAAGG CGGTAATACG
701 GTTATCCACA GAATCAGGGG ATAACGCAGG AAAGAACATG TGAGCAAAAG
5 751 GCCAGCAAAA GGCCAGGAAC CGTAAAAAGG CCGCGTTGCT GGCCTTTTTTC
801 CATAGGCTCC GCCCCCTGA CGAGCATCAC AAAAATCGAC GCTCAAGTCA
851 GAGGTGGCGA AACCCGACAG GACTATAAAG ATACCAGGCG TTTCCCCCTG
901 GAAGCTCCCT CGTGCGCTCT CCTGTTCCGA CCCTGCCGCT TACCGGATAC
951 CTGTCCGCCT TTCTCCCTTC GGAAGCGTG GCGCTTTCTC ATAGCTCAGC
10 1001 CTGTAGGTAT CTCAGTTCGG TGTAGGTCGT TCGCTCCAAG CTGGGCTGTG
1051 TGCACGAACC CCCCCTTCAG CCCGACCGCT GCGCCTTATC CGGTAACATAT
1101 CGTCTTGAGT CCAACCCGGT AAGACACGAC TTATCGCCAC TGGCAGCAGC
1151 CACTGGTAAC AGGATTAGCA GAGCGAGGTA TGTAGGCGGT GCTACAGAGT
1201 TCTTGAAGTG GTGGCCTAAC TACGGCTACA CTAGAAGGAC AGTATTTGGT
15 1251 ATCTGCGCTC TGCTGAAGCC AGTTACCTTC GGAAAAAGAG TTGGTAGCTC
1301 TTGATCCGGC AAACAAACCA CCGCTGGTAG CCGGTGGTTTT TTTGTTTGCA
1351 AGCAGCAGAT TACGCGCAGA AAAAAGGAT CTCAAGAAGA TCCTTTGATC
1401 TTTTCTACGG GGTCTGACGC TCAGTGGAAC GAAAACTCAC GTTAAGGGAT
1451 TTTGGTCATG AGATTATCAA AAAGGATCTT CACCTAGATC CTTTTAAATT
20 1501 AAAAATGAAG TTTTAAATCA ATCTAAAGTA TATATGAGTA AACTTGGTCT
1551 GACAGTTACC AATGCTTAAT CAGTGAGGCA CCTATCTCAG CGATCTGTCT
1601 ATTTCTGTTCA TCCATAGTTG CCTGACTCCC CGTCGTGTAG ATAACCTACGA
1651 TACGGGAGGG CTTACCATCT GGCCCCAGTG CTGCAATGAT ACCGCGAGAC
1701 CCACGCTCAC CGGCTCCAGA TTTATCAGCA ATAAACCAGC CAGCCGGAAG
25 1751 GGCCGAGCGC AGAAGTGGTC CTGCAACTTT ATCCGCTCC ATCCAGTCTA
1801 TTAATTGTTG CCGGGAAGCT AGAGTAAGTA GTTCGCCAGT TAATAGTTTG
1851 CGCAACGTTG TTGCCATTGC TGCAGGCATC GTGGTGTAC GCTCGTCGTT
1901 TGGTATGGCT TCATTCAGCT CCGGTTCCCA ACGATCAAGG CGAGTTACAT
1951 GATCCCCCAT GTTGTGCAAA AAAGCGGTTA GCTCCTTCGG TCCTCCGATC
30 2001 GTTGTGAGAA GTAAGTTGGC CGCAGTGTTA TCACTCATGG TTATGGCAGC
2051 ACTGCATAAT TCTCTTACTG TCATGCCATC CGTAAGATGC TTTTCTGTGA
2101 CTGGTGAGTA CTCAACCAAG TCATTCTGAG AATAGTGTAT GCGGCGACCG
2151 AGTTGCTCTT GCCCGGCGTC AACACGGGAT AATACCGCGC CACATAGCAG

- 47 -

2201 AACTTTAAAA GTGCTCATCA TTGGAAAACG TTCTTCGGGG CGAAAACCTCT
2251 CAAGGATCTT ACCGCTGTTG AGATCCAGTT CGATGTAACC CACTCGTGCA
2301 CCCAACTGAT CTTCAGCATC TTTTACTTTC ACCAGCGTTT CTGGGTGAGC
2351 AAAAACAGGA AGGCAAAATG CCGCAAAAAA GGAATAAGG GCGACACGGA
5 2401 AATGTTGAAT ACTCATACTC TTCCTTTTTC AATATTATTG AAGCATTTAT
2451 CAGGGTTATT GTCTCATGAG CGGATACATA TTTGAATGTA TTTAGAAAAA
2501 TAAACAAATA GGGGTTCCGC GCACATTTCC CCGAAAAGTG CCACCTGACG
2551 TCTAAGAAAC CATTATTATC ATGACATTAA CCTATAAAAA TAGGCGTATC
2601 ACGAGGCCCT TTCGTCTTCA AGAATTCAGC TTGGCTGCAG TGAATAATAA
10 2651 AATGTGTGTT TGTCCGAAAT ACGCGTTTTG AGATTTCTGT CGCCGACTAA
2701 ATTCATGTCG CGCGATAGTG GTGTTTATCG CCGATAGAGA TGGCGATATT
2751 GGAAAAATCG ATATTTGAAA ATATGGCATA TTGAAAATGT CGCCGATGTG
2801 AGTTTCTGTG TAACTGATAT CGCCATTTTT CCAAAAGTGA TTTTGGGCA
2851 TACGCGATAT CTGGCGATAG CGCTTATATC GTTTACGGGG GATGGCGATA
15 2901 GACGACTTTG GTGACTTGGG CGATTCTGTG TGTCGCAAAT ATCGCAGTTT
2951 CGATATAGGT GACAGACGAT ATGAGGCTAT ATCGCCGATA GAGGCGACAT
3001 CAAGCTGGCA CATGGCCAAT GCATATCGAT CTATACATTG AATCAATATT
3051 GGCCATTAGC CATATTATTC ATTGGTTATA TAGCATAAAT CAATATTGGC
3101 TATTGGCCAT TGCATACGTT GTATCCATAT CATAATATGT ACATTTATAT
20 3151 TGGCTCATGT CCAACATTAC CGCCATGTTG ACATTGATTA TTGACTAGTT
3201 ATTAATAGTA ATCAATTACG GGGTCATTAG TTCATAGCCC ATATATGGAG
3251 TTCCGCGTTA CATAACTTAC GGTAAATGGC CCGCCTGGCT GACCGCCCAA
3301 CGACCCCGC CCATTGACGT CAATAATGAC GTATGTTCCC ATAGTAACGC
3351 CAATAGGGAC TTTCATTGA CGTCAATGGG TGGAGTATTT ACGGTAAACT
25 3401 GCCCACTTGG CAGTACATCA AGTGTATCAT ATGCCAAGTA CGCCCCCTAT
3451 TGACGTCAAT GACGGTAAAT GGCCCGCCTG GCATTATGCC CAGTACATGA
3501 CCTTATGGGA CTTTCCTACT TGGCAGTACA TCTACGTATT AGTCATCGCT
3551 ATTACCATGG TGATGCGGTT TTGGCAGTAC ATCAATGGGC GTGGATAGCG
3601 GTTTGACTCA CGGGGATTTT CAAGTCTCCA CCCCATTGAC GTCAATGGGA
30 3651 GTTTGTTTTG GCACCAAAT CAACGGGACT TTCCAAAATG TCGTAACAAC
3701 TCCGCCCCAT TGACGCAAAT GGGCGGTAGG CGTGTACGGT GGGAGGTCTA
3751 TATAAGCAGA GCTCGTTTAG TGAACCGTCA GATCGCCTGG AGACGCCATC
3801 CACGCTGTTT TGACCTCCAT AGAAGACACC GGGACCGATC CAGCCTCCGC

- 48 -

3851 AAGCTTGATA TCGAATTCTT GCAGCCCGGG GGATCCGCCC GCTTGCCGCC
3901 ACCATGGAGA CCCCCGCCCC GCTGCTGTTC CTGCTGCTGC TGTGGCTGCC
3951 CGACACCACC GCGGACATTC TGCTGACCCA GTCTCCAGCC ACCCTGTCTC
4001 TGAGTCCAGG AGAAAGAGCC ACTCTCTCCT GCAGGGCCAG TCAGAACATT
5 4051 GGCACAAGCA TACAGTGGTA TCAACAAAA CCAGGTCAGG CTCCAAGGCT
4101 TCTCATAAGG TCTTCTTCTG AGTCTATCTC TGGGATCCCT TCCAGGTTTA
4151 GTGGCAGTGG ATCAGGGACA GATTTTACTC TTACCATCAG CAGTCTGGAG
4201 CCTGAAGATT TTGCAGTGTA TTAAGTCAA CAAAGTAATA CCTGGCCATT
4251 CACGTTCCGC CAGGGGACCA AGCTGGAGAT CAAACGTGAG TATTCTAGAA
10 4301 AGATCCTAGA ATTCTAAACT CTGAGGGGGT CGGATGACGT GGCCATTCTT
4351 TGCCTAAAGC ATTGAGTTTA CTGCAAGGTC AGAAAAGCAT GCAAAGCCCT
4401 CAGAATGGCT GCAAAGAGCT CCAACAAAAC AATTTAGAAC TTTATTAAGG
4451 AATAGGGGGA AGCTAGGAAG AAAGTCAAAA CATCAAGATT TTAAATACGC
4501 TTCTTGGTCT CCTTGCTATA ATTATCTGGG ATAAGCATGC TGTTTTCTGT
15 4551 CTGTCCCTAA CATGCCCTGT GATTATCCGC AAACAACACA CCCAAGGGCA
4601 GAACTTTGTT ACTTAAACAC CATCCTGTTT GCTTCTTTCC TCAGGAACTG
4651 TGGCTGCACC ATCTGTCTTC ATCTTCCCGC CATCTGATGA GCAGTTGAAA
4701 TCTGGAAGTG CCTCTGTTGT GTGCCTGCTG AATAACTTCT ATCCCAGAGA
4751 GGCCAAAGTA CAGTGAAGG TGGATAACGC CCTCCAATCG GGTAAGTCCC
20 4801 AGGAGAGTGT CACAGAGCAG GACAGCAAGG ACAGCACCTA CAGCCTCAGC
4851 AGCACCTGA CGCTGAGCAA AGCAGACTAC GAGAAACACA AAGTCTACGC
4901 CTGCGAAGTC ACCCATCAGG GCCTGAGCTC GCCCGTCACA AAGAGCTTCA
4951 ACAGGGGAGA GTGTTAGAGG GAGAAGTGCC CCCACCTGCT CCTCAGTTCC
5001 AGCCTGACCC CCTCCCATCC TTTGGCCTCT GACCCTTTTT CCACAGGGGA
25 5051 CCTACCCCTA TTGCGGTCCT CCAGCTCATC TTTCACCTCA CCCCCTCCT
5101 CCTCCTTGGC TTTAATTATG CTAATGTTGG AGGAGAATGA ATAAATAAAG
5151 TGAATCTTTG CACCTGTGGT TTCTCTCTTT CCTCATTTAA TAATTATTAT
5201 CTGTTGTTTA CCAACTACTC AATTTCTCTT ATAAGGGACT AAATATGTAG
5251 TCATCCTAAG GCGCATAACC ATTTATAAAA ATCATCCTTC ATTCTATTTT
30 5301 ACCCTATCAT CCTCTGCAAG ACAGTCCTCC CTCAAACCCA CAAGCCTTCT
5351 GTCCTCACAG TCCCCTGGGC CATGGTAGGA GAGACTTGCT TCCTTGTTTT
5401 CCCCTCCTCA GCAAGCCCTC ATAGTCCTTT TTAAGGGTGA CAGGTCTTAC
5451 AGTCATATAT CCTTTGATTC AATTCCTGA GAATCAACCA AAGCAAATTT

- 49 -

5501 TTCAAAGAA GAAACCTGCT ATAAAGAGAA TCATTCAATTG CAACATGATA
 5551 TAAAATAACA ACACAATAAA AGCAATTAAA TAAACAAACA ATAGGGAAAT
 5601 GTTTAAGTTC ATCATGGTAC TTAGACTTAA TGGAATGTCA TGCCTTATTT
 5651 ACATTTTAA ACAGGTACTG AGGGACTCCT GTCTGCCAAG GGCCGTATTG
 5 5701 AGTACTTTCC ACAACCTAAT TTAATCCACA CTATACTGTG AGATTAAAAA
 5751 CATTCAATTA AATGTTGCAA AGGTTCTATA AAGCTGAGAG ACAAATATAT
 5801 TCTATAACTC AGCAATCCCA CTTCTAGATG ACTGAGTGTC CCCACCCACC
 5851 AAAAACTAT GCAAGAATGT TCAAAGCAGC TTTATTTACA AAAGCCAAAA
 5901 ATTGGAAATA GCCCGATTGT CCAACAATAG AATGAGTTAT TAACTGTGG
 10 5951 TATGTTTATA CATTAGAATA CCCAATGAGG AGAATTAACA AGCTACAACT
 6001 ATACCTACTC ACACAGATGA ATCTCATAAA AATAATGTTA CATAAGAGAA
 6051 ACTCAATGCA AAAGATATGT TCTGTATGTT TTCATCCATA TAAAGTTCAA
 6101 AACCAGGTAA AATAAAGTT AGAAATTGG ATGGAAATTA CTCTTAGCTG
 6151 GGGGTGGGCG AGTTAGTGCC TGGGAGAAGA CAAGAAGGGG CTTCTGGGGT
 15 6201 CTTGGTAATG TTCTGTTCTT CGTGTGGGGT TGTGCAGTTA TGATCTGTGC
 6251 ACTGTTCTGT ATACACATTA TGCTTCAAAA TAACTTCACA TAAAGAACAT
 6301 CTTATACCCA GTTAATAGAT AGAAGAGGAA TAAGTAATAG GTCAAGACCA
 6351 CGCAGCTGGT AAGTGGGGGG GCCTGGGATC AAATAGCTAC CTGCCTAATC
 6401 CTGCCCTCTT GAGCCCTGAA TGAGTCTGCC TTCCAGGGCT CAAGGTGCTC
 20 6451 AACAAAACAA CAGGCCTGCT ATTTCTCTGG CATCTGTGCC CTGTTTGGCT
 6501 AGCTAGGAGC ACACATACAT AGAAATTAAA TGAAACAGAC CTTAGCAAG
 6551 GGGACAGAGG ACAGAATTAA CCTTGCCAG ACACTGGAAA CCCATGTATG
 6601 AACACTCACA TGTTTGGGAA GGGGGAAGGG CACATGTAAA TGAGGACTCT
 6651 TCCTCATTCT ATGGGGCACT CTGGCCCTGC CCCTCTCAGC TACTCATCCA
 25 6701 TCCAACACAC CTTTCTAAGT ACCTCTCTCT GCCTACACTC TGAAGGGGTT
 6751 CAGGAGTAAC TAACACAGCA TCCCTTCCCT CAAATGACTG ACAATCCCTT
 6801 TGTCTTGCTT TGTTTTCTT TCCAGTCAGT ACTGGGAAAG TGGGGAAGGA
 6851 CAGTCATGGA GAAACTACAT AAGGAAGCAC CTTGCCCTTC TGCCTCTTGA
 6901 GAATGTTGAT GAGTATCAA TCTTTCAAAC TTTGGAGGTT TGAGTAGGGG
 30 6951 TGAGACTCAG TAATGTCCCT TCCAATGACA TGAACCTGCT CACTCATCCC
 7001 TGGGGGCCAA ATTGAACAAT CAAAGGCAGG CATAATCCAG CTATGAATTC
 7051 TAGGATCGAT CCAGACATGA TAAGATACAT TGATGAGTTT GGACAAACCA
 7101 CAACTAGAAT GCAGTGAAAA AAATGCTTTA TTTGTGAAAT TTGTGATGCT

- 50 -

7151 ATTGCTTTAT TTGTAACCAT TATAAGCTGC AATAACAAG TTAACAACAA
 7201 CAATTGCATT CATTTTATGT TTCAGGTTCA GGGGGAGGTG TGGGAGGTTT
 7251 TTAAAGCAA GTAAACCTC TACAAATGTG GTATGGCTGA TTATGATCTC
 7301 TAGTCAAGGC ACTATACATC AAATATTCCT TATTAACCCC TTTACAAATT
 5 7351 AAAAAGCTAA AGGTACACAA TTTTGTAGCA TAGTTATTAA TAGCAGACAC
 7401 TCTATGCCTG TGTGGAGTAA GAAAAACAG TATGTTATGA TTATAACTGT
 7451 TATGCCTACT TATAAAGGTT ACAGAATATT TTTCCATAAT TTTCTTGTAT
 7501 AGCAGTGCAG CTTTTTCCTT TGTGGTGTAA ATAGCAAAGC AAGCAAGAGT
 7551 TCTATTACTA AACACAGCAT GACTCAAAAA ACTTAGCAAT TCTGAAGGAA
 10 7601 AGTCCTTGGG GTCTTCTACC TTTCTCTTCT TTTTGGAGG AGTAGAATGT
 7651 TGAGAGTCAG CAGTAGCCTC ATCATCACTA GATGGCATT TTTCTGAGCA
 7701 AACAGGTTT TCCTCATTAA AGGCATTCCA CCACTGCTCC CATTTCATCAG
 7751 TTCCATAGGT TGAATCTAA AATACACAAA CAATTAGAAT CAGTAGTTTA
 7801 ACACATTATA CACTTAAAAA TTTTATATTT ACCTTAGAGC TTTAAATCTC
 15 7851 TGTAGGTAGT TTGTCCAATT ATGTCACACC ACAGAAGTAA GGTTCCTTCA
 7901 CAAAGATCCG GGACCAAAGC GGCCATCGTG CCTCCCCACT CTGTCAGTTC
 7951 GGGGGCATGG ATGCGCGGAT AGCCGCTGCT GGTTCCTGG ATGCCGACGG
 8001 ATTTGCACTG CCGGTAGAAC TCCGCGAGGT CGTCCAGCCT CAGGCAGCAG
 8051 CTGAACCAAC TCGCGAGGGG ATCGAGCCCG GGGTGGGCGA AGAACTCCAG
 20 8101 CATGAGATCC CCGCGCTGGA GGATCATCCA GCCGGCGTCC CGGAAAACGA
 8151 TTCCGAAGCC CAACCTTTCA TAGAAGGCGG CGGTGGGAATC GAAATCTCGT
 8201 GATGGCAGGT TGGGCGTCGC TTGGTCGGTC ATTTCGAACC CCAGAGTCCC
 8251 GCTCAGAAGA ACTCGTCAAG AAGGCGATAG AAGGCGATGC GCTGCGAATC
 8301 GGGAGCGGCG ATACCGTAAA GCACGAGGAA GCGGTCAGCC CATTGCGCGC
 25 8351 CAAGCTCTTC AGCAATATCA CGGGTAGCCA ACGCTATGTC CTGATAGCGG
 8401 TCCGCCACAC CCAGCCGGCC ACAGTCGATG AATCCAGAAA AGCGGCCATT
 8451 TTCCACCATG ATATTCGGCA AGCAGGCATC GCCATGGGTC ACGACGAGAT
 8501 CCTCGCCGTC GGGCATGCGC GCCTTGAGCC TGGCGAACAG TTCGGCTGGC
 8551 GCGAGCCCCCT GATGCTCTTC GTCCAGATCA TCCTGATCGA CAAGACCGGC
 30 8601 TTCCATCCGA GTACGTGCTC GCTCGATGCG ATGTTTCGCT TGGTGGTCGA
 8651 ATGGGCAGGT AGCCGGATCA AGCGTATGCA GCCGCCGCAT TGCATCAGCC
 8701 ATGATGGATA CTTTCTCGGC AGGAGCAAGG TGAGATGACA GGAGATCCTG
 8751 CCCCGGCACT TCGCCCAATA GCAGCCAGTC CCTTCCCGCT TCAGTGACAA

8801 CGTCGAGCAC AGCTGCGCAA GGAACGCCCG TCGTGGCCAG CCACGATAGC
8851 CGCGCTGCCT CGTCCTGCAG TTCATTCAGG GCACCGGACA GGTCGGTCTT
8901 GACAAAAAGA ACCGGGCGCC CCTGCGCTGA CAGCCGGAAC ACGGCGGCAT
8951 CAGAGCAGCC GATTGTCTGT TGTGCCCAGT CATAGCCGAA TAGCCTCTCC
5 9001 ACCCAAGCGG CCGGAGAACC TGCCTGCAAT CCATCTTGTT CAATCATGCG
9051 AAACGATCCT CATCCTGTCT CTGATCAGA TCTTGATCCC CTGCGCCATC
9101 AGATCCTTGG CGGCAAGAAA GCCATCCAGT TTACTTTGCA GGGCTTCCCA
9151 ACCTTACCAG AGGGCGCCCC AGCTGGCAAT TCCGGTTCGC TTGCTGTCCA
9201 TAAAACCGCC CAGTCTAGCT ATCGCCATGT AAGCCCACTG CAAGCTACCT
10 9251 GCTTTCTCTT TCGCCTTGCG TTTTCCCTTG TCCAGATAGC CCAGTAGCTG
9301 ACATTCATCC GGGGTCAGCA CCGTTTCTGC GGACTGGCTT TCTACGTGTT
9351 CCGCTTCCTT TAGCAGCCCT TCGCCCTGA GTGCTTGCGG CAGCGTGAAG

SEQ ID NO:18

15 **Nucleotide sequence of the expression vector HCMV-K HuAb-VL1 hum V2**
(Complete DNA Sequence of a humanised light chain expression vector comprising
SEQ ID NO: 13 (humV2=VLm) from 3926-4246)

1 CTAGCTTTTT GCAAAAGCCT AGGCCTCCAA AAAAGCCTCC TCACTACTTC
20 51 TGGAATAGCT CAGAGGCCGA GCGGCCTCG GCCTCTGCAT AAATAAAAAA
101 AATTAGTCAG CCATGGGGCG GAGAATGGGC GGAAGTGGGC GGAGTTAGGG
151 GCGGGATGGG CGGAGTTAGG GCGGGGACTA TGGTTGCTGA CTAATTGAGA
201 TGCATGCTTT GCATACTTCT GCCTGCTGGG GAGCCTGGTT GCTGACTAAT
251 TGAGATGCAT GCTTTGCATA CTTCTGCCTG CTGGGGAGCC TGGGGACTTT
25 301 CCACACCCTA ACTGACACAC ATTCCACAGC TGCCTCGCGC GTTTCGGTGA
351 TGACGGTGAA AACCTCTGAC ACATGCAGCT CCCGGAGACG GTCACAGCTT
401 GTCTGTAAGC GGATGCCGGG AGCAGACAAG CCCGTCAGGG CGCGTCAGCG
451 GGTGTTGGCG GGTGTCGGGG CGCAGCCATG ACCCAGTCAC GTAGCGATAG
501 CGGAGTGTAT ACTGGCTTAA CTATGCGGCA TCAGAGCAGA TTGTACTGAG
30 551 AGTGCACCAT ATGCGGTGTG AAATACCGCA CAGATGCGTA AGGAGAAAAT
601 ACCGCATCAG GCGCTCTTCC GCTTCCTCGC TCACTGACTC GCTGCGCTCG
651 GTCGTTCCGC TCGGCGGAGC GGTATCAGCT CACTCAAAGG CGGTAATACG
701 GTTATCCACA GAATCAGGGG ATAACGCAGG AAAGAACATG TGAGCAAAAG

- 52 -

751 GCCAGCAAAA GGCCAGGAAC CGTAAAAAGG CCGCGTTGCT GGCCTTTTTTC
 801 CATAGGCTCC GCCCCCTGA CGAGCATCAC AAAAATCGAC GCTCAAGTCA
 851 GAGGTGGCGA AACCCGACAG GACTATAAAG ATACCAGGCG TTTCCCCCTG
 901 GAAGCTCCCT CGTGCCTCT CCGTTCCGA CCCTGCCGCT TACCGGATAC
 5 951 CTGTCCGCTT TTCTCCCTTC GGAAGCGTG GCGCTTTCTC ATAGCTCACG
 1001 CTGTAGGTAT CTCAGTTCGG TGTAGGTCGT TCGCTCCAAG CTGGGCTGTG
 1051 TGCACGAACC CCCCCTTCAG CCGACCGCT GCGCTTATC CGGTAACAT
 1101 CGTCTTGAGT CCAACCCGGT AAGACACGAC TTATCGCCAC TGGCAGCAGC
 1151 CACTGGTAAC AGGATTAGCA GAGCGAGGTA TGTAGGCGGT GCTACAGAGT
 10 1201 TCTTGAAGTG GTGGCCTAAC TACGGCTACA CTAGAAGGAC AGTATTTGGT
 1251 ATCTGCGCTC TGCTGAAGCC AGTTACCTTC GGAAAAAGAG TTGGTAGCTC
 1301 TTGATCCGGC AAACAAACCA CCGCTGGTAG CCGTGGTTTT TTTGTTTGCA
 1351 AGCAGCAGAT TACGCGCAGA AAAAAGGAT CTCAAGAAGA TCCTTTGATC
 1401 TTTTCTACGG GGTCTGACGC TCAGTGGAAC GAAAACTCAC GTTAAGGGAT
 15 1451 TTTGGTCATG AGATTATCAA AAAGGATCTT CACCTAGATC CTTTTAAATT
 1501 AAAAATGAAG TTTTAAATCA ATCTAAAGTA TATATGAGTA AACTTGGTCT
 1551 GACAGTTACC AATGCTTAAT CAGTGAGGCA CCTATCTCAG CGATCTGTCT
 1601 ATTTCTGTTCA TCCATAGTTG CCGACTCCC CGTCGTGTAG ATAACCTACGA
 1651 TACGGGAGGG CTTACCATCT GCGCCAGTG CTGCAATGAT ACCGCGAGAC
 20 1701 CCACGCTCAC CGGCTCCAGA TTTATCAGCA ATAAACCAGC CAGCCGGAAG
 1751 GGCCGAGCGC AGAAGTGGTC CTGCAACTTT ATCCGCTCC ATCCAGTCTA
 1801 TTAATTGTTG CCGGGAAGCT AGAGTAAGTA GTTCGCCAGT TAATAGTTTG
 1851 CGCAACGTTG TTGCCATTGC TGCAGGCATC GTGGTGTAC GCTCGTCGTT
 1901 TGGTATGGCT TCATTAGCT CCGTTCCCA ACGATCAAGG CGAGTTACAT
 25 1951 GATCCCCCAT GTTGTCAAA AAAGCGGTTA GCTCCTTCGG TCCTCCGATC
 2001 GTTGTGAGAA GTAAGTTGGC CGCAGTGTTA TCACTCATGG TTATGGCAGC
 2051 ACTGCATAAT TCTCTTACTG TCATGCCATC CGTAAGATGC TTTTCTGTGA
 2101 CTGGTGAGTA CTCAACCAAG TCATTCTGAG AATAGTGTAT GCGGCGACCG
 2151 AGTTGCTCTT GCGGCGGTC AACACGGGAT AATACCGCGC CACATAGCAG
 30 2201 AACTTTAAAA GTGCTCATCA TTGGAAAACG TTCTTCGGGG CGAAAACTCT
 2251 CAAGGATCTT ACCGCTGTTG AGATCCAGTT CGATGTAACC CACTCGTGCA
 2301 CCCAACTGAT CTTCAGCATC TTTTACTTTC ACCAGCGTTT CTGGGTGAGC
 2351 AAAACAGGA AGGCAAAATG CCGCAAAAAA GGAATAAGG GCGACACGGA

- 53 -

2401 AATGTTGAAT ACTCATACTC TTCCTTTTTC AATATTATTG AAGCATTAT
 2451 CAGGGTTATT GTCTCATGAG CGGATACATA TTTGAATGTA TTTAGAAAA
 2501 TAAACAAATA GGGGTTCCGC GCACATTTC CCGAAAAGTG CCACCTGACG
 2551 TCTAAGAAAC CATTATTATC ATGACATTAA CCTATAAAAA TAGGCGTATC
 5 2601 ACGAGGCCCT TTCGTCTTCA AGAATTCAGC TTGGCTGCAG TGAATAATAA
 2651 AATGTGTGTT TGTCCGAAAT ACGCGTTTTG AGATTCTGT CGCCGACTAA
 2701 ATTCATGTCG CGCGATAGTG GTGTTTATCG CCGATAGAGA TGGCGATATT
 2751 GGAAAAATCG ATATTTGAAA ATATGGCATA TTGAAAATGT CGCCGATGTG
 2801 AGTTTCTGTG TAACTGATAT CGCCATTTTT CCAAAAGTGA TTTTGGGCA
 10 2851 TACGCGATAT CTGGCGATAG CGCTTATATC GTTTACGGGG GATGGCGATA
 2901 GACGACTTTG GTGACTTGGG CGATTCTGTG TGTGCGAAAT ATCGCAGTTT
 2951 CGATATAGGT GACAGACGAT ATGAGGCTAT ATCGCCGATA GAGGCGACAT
 3001 CAAGCTGGCA CATGGCCAAT GCATATCGAT CTATACATTG AATCAATATT
 3051 GGCCATTAGC CATATTATTC ATTGGTTATA TAGCATAAAT CAATATTGGC
 15 3101 TATTGGCCAT TGCATACGTT GTATCCATAT CATAATATGT ACATTTATAT
 3151 TGGCTCATGT CCAACATTAC CGCCATGTTG ACATTGATTA TTGACTAGTT
 3201 ATTAATAGTA ATCAATTACG GGGTCATTAG TTCATAGCCC ATATATGGAG
 3251 TTCCGCGTTA CATAACTTAC GGTAAATGGC CCGCCTGGCT GACCGCCCAA
 3301 CGACCCCCGC CCATTGACGT CAATAATGAC GTATGTTCCC ATAGTAACGC
 20 3351 CAATAGGGAC TTTCCATTGA CGTCAATGGG TGGAGTATTT ACGGTAAACT
 3401 GCCCACTTGG CAGTACATCA AGTGTATCAT ATGCCAAGTA CGCCCCCTAT
 3451 TGACGTCAAT GACGGTAAAT GGCCCGCCTG GCATTATGCC CAGTACATGA
 3501 CCTTATGGGA CTTTCTACT TGGCAGTACA TCTACGTATT AGTCATCGCT
 3551 ATTACCATGG TGATGCGGTT TTGGCAGTAC ATCAATGGGC GTGGATAGCG
 25 3601 GTTTGACTCA CGGGGATTTT CAAGTCTCCA CCCCATTGAC GTCAATGGGA
 3651 GTTTGTTTTG GCACCAAAT CAACGGGACT TTCCAAAATG TCGTAACAAC
 3701 TCCGCCCCAT TGACGCAAAT GGGCGGTAGG CGTGTACGGT GGGAGGTCTA
 3751 TATAAGCAGA GCTCGTTTAG TGAACCGTCA GATCGCCTGG AGACGCCATC
 3801 CACGCTGTTT TGACCTCCAT AGAAGACACC GGGACCGATC CAGCCTCCGC
 30 3851 AAGCTTGCCG CCACCATGGA GACCCCCGCC CAGCTGCTGT TCCTGCTGCT
 3901 GCTGTGGCTG CCCGACACCA CCGGCGACAT TCTGCTGACC CAGTCTCCAG
 3951 CCACCCTGTC TCTGAGTCCA GGAGAAAGAG CCACTTTCTC CTGCAGGGCC
 4001 AGTCAGAACA TTGGCACAAG CACACAGTGG TATCAACAAA AAACAAATGG

- 54 -

4051 TGCTCCAAGG CTTCTCATAA GGTCTTCTTC TGAGTCTATC TCTGGGATCC
 4101 CTTCCAGGTT TAGTGGCAGT GGATCAGGGA CAGATTTTAC TCTTACCATC
 4151 AGCAGTCTGG AGCCTGAAGA TTTTGCAGTG TATTACTGTC AACAAAGTAA
 4201 TACCTGGCCA TTCACGTTTCG GCCAGGGGAC CAAGCTGGAG ATCAAACGTG
 5 4251 AGTATTCTAG AAAGATCCTA GAATTCTAAA CTCTGAGGGG GTCGGATGAC
 4301 GTGGCCATTC TTTGCCTAAA GCATTGAGTT TACTGCAAGG TCAGAAAAGC
 4351 ATGCAAAGCC CTCAGAATGG CTGCAAAGAG CTCCAACAAA ACAATTTAGA
 4401 ACTTTATTAA GGAATAGGGG GAAGCTAGGA AGAAACTCAA AACATCAAGA
 4451 TTTTAAATAC GCTTCTTGGT CTCCTTGCTA TAATTATCTG GGATAAGCAT
 10 4501 GCTGTTTTCT GTCTGTCCCT AACATGCCCT GTGATTATCC GCAAACAACA
 4551 CACCCAAGGG CAGAACTTTG TTA CTTA AAC ACCATCCTGT TTGCTTCTTT
 4601 CCTCAGGAAC TGTGGCTGCA CCATCTGTCT TCATCTTCCC GCCATCTGAT
 4651 GAGCAGTTGA AATCTGGAAC TGCCTCTGTT GTGTGCCTGC TGAATAACTT
 4701 CTATCCCAGA GAGGCCAAAG TACAGTGGAA GGTGGATAAC GCCCTCCAAT
 15 4751 CGGGTAACTC CCAGGAGAGT GTCACAGAGC AGGACAGCAA GGACAGCACC
 4801 TACAGCCTCA GCAGCACCCT GACGCTGAGC AAAGCAGACT ACGAGAAACA
 4851 CAAAGTCTAC GCCTGCGAAG TCACCCATCA GGGCCTGAGC TCGCCCGTCA
 4901 CAAAGAGCTT CAACAGGGGA GAGTGTTAGA GGGAGAAGTG CCCCCACCTG
 4951 CTCCTCAGTT CCAGCCTGAC CCCCTCCCAT CCTTTGGCCT CTGACCCTTT
 20 5001 TTCCACAGGG GACCTACCCC TATTGCGGTC CTCCAGCTCA TCTTTCACCT
 5051 CACCCCCCTC CTCCTCCTTG GCTTTAATTA TGCTAATGTT GGAGGAGAAT
 5101 GAATAAATAA AGTGAATCTT TGCACCTGTG GTTTCTCTCT TTCCTCATTT
 5151 AATAATTATT ATCTGTTGTT TACCAACTAC TCAATTTCTC TTATAAGGGA
 5201 CTAAATATGT AGTCATCCTA AGGCGCATAA CCATTTATAA AAATCATCCT
 25 5251 TCATTCTATT TTACCCTATC ATCCTCTGCA AGACAGTCCT CCCTCAAACC
 5301 CACAAGCCTT CTGTCCTCAC AGTCCCCTGG GCCATGGTAG GAGAGACTTG
 5351 CTTCTTGTGTT TTCCCCTCCT CAGCAAGCCC TCATAGTCCT TTTTAAGGGT
 5401 GACAGGTCTT ACAGTCATAT ATCCTTTGAT TCAATTCCTT GAGAATCAAC
 5451 CAAAGCAAAT TTTTCAAAAG AAGAAACCTG CTATAAAGAG AATCATTCAT
 30 5501 TGCAACATGA TATAAAATAA CAACACAATA AAAGCAATTA AATAAACAAA
 5551 CAATAGGGAA ATGTTTAAGT TCATCATGGT ACTTAGACTT AATGGAATGT
 5601 CATGCCTTAT TTACATTTTT AAACAGGTAC TGAGGGACTC CTGTCTGCCA
 5651 AGGGCCGTAT TGAGTACTTT CCACAACCTA ATTTAATCCA CACTATACTG

- 55 -

5701 TGAGATTAAA AACATTCATT AAAATGTTGC AAAGGTTCTA TAAAGCTGAG
 5751 AGACAAATAT ATTCTATAAC TCAGCAATCC CACTTCTAGA TGACTGAGTG
 5801 TCCCCACCCA CCAAAAAACT ATGCAAGAAT GTTCAAAGCA GCTTTATTTA
 5851 CAAAAGCCAA AAATTGGAAA TAGCCCGATT GTCCAACAAT AGAATGAGTT
 5 5901 ATTAAACTGT GGTATGTTTA TACATTAGAA TACCCAATGA GGAGAATTAA
 5951 CAAGCTACAA CTATACCTAC TCACACAGAT GAATCTCATA AAAATAATGT
 6001 TACATAAGAG AAACCTCAATG CAAAAGATAT GTTCTGTATG TTTTCATCCA
 6051 TATAAAGTTC AAAACCAGGT AAAAATAAAG TTAGAAATTT GGATGGAAAT
 6101 TACTCTTAGC TGGGGGTGGG CGAGTTAGTG CCTGGGAGAA GACAAGAAGG
 10 6151 GGCTTCTGGG GTCTTGGTAA TGTTCTGTTC CTCGTGTGGG GTTGTGCAGT
 6201 TATGATCTGT GCACTGTTCT GTATACACAT TATGCTTCAA AATAACTTCA
 6251 CATAAAGAAC ATCTTATACC CAGTTAATAG ATAGAAGAGG AATAAGTAAT
 6301 AGGTCAAGAC CACGCAGCTG GTAAGTGGGG GGGCCTGGGA TCAAATAGCT
 6351 ACCTGCCTAA TCCTGCCCTC TTGAGCCCTG AATGAGTCTG CCTTCCAGGG
 15 6401 CTCAAGGTGC TCAACAAAAC AACAGGCCTG CTATTTTCCT GGCATCTGTG
 6451 CCCTGTTTGG CTAGCTAGGA GCACACATAC ATAGAAATTA AATGAAACAG
 6501 ACCTTCAGCA AGGGGACAGA GGACAGAATT AACCTTGCCC AGACACTGGA
 6551 AACCCATGTA TGAACACTCA CATGTTTGGG AAGGGGGAAG GGCACATGTA
 6601 AATGAGGACT CTTCTCTATT CTATGGGGCA CTCTGGCCCT GCCCCTCTCA
 20 6651 GCTACTCATC CATCCAACAC ACCTTCTTAA GTACCTCTCT CTGCCTACAC
 6701 TCTGAAGGGG TTCAGGAGTA ACTAACACAG CATCCCTTCC CTCAAATGAC
 6751 TGACAATCCC TTTGTCCTGC TTTGTTTTTC TTTCCAGTCA GTACTGGGAA
 6801 AGTGGGGAAG GACAGTCATG GAGAACTAC ATAAGGAAGC ACCTTGCCCT
 6851 TCTGCCTCTT GAGAATGTTG ATGAGTATCA AATCTTTCAA ACTTTGGAGG
 25 6901 TTTGAGTAGG GGTGAGACTC AGTAATGTCC CTTCCAATGA CATGAACTTG
 6951 CTCCTCATC CCTGGGGGCC AAATTGAACA ATCAAAGGCA GGCATAATCC
 7001 AGCTATGAAT TCTAGGATCG ATCCAGACAT GATAAGATAC ATTGATGAGT
 7051 TTGGACAAAC CACAAC TAGA ATGCAGTGAA AAAAATGCTT TATTTGTGAA
 7101 ATTTGTGATG CTATTGCTTT ATTTGTAACC ATTATAAGCT GCAATAAACA
 30 7151 AGTTAACAAC AACAATTGCA TTCATTTTAT GTTTCAGGTT CAGGGGGAGG
 7201 TGTGGGAGGT TTTTAAAGC AAGTAAACC TCTACAAATG TGGTATGGCT
 7251 GATTATGATC TCTAGTCAAG GCACTATACA TCAAATATTC CTTATTAACC
 7301 CCTTTACAAA TTAAAAGCT AAAGGTACAC AATTTTGTAG CATAGTTATT

- 56 -

7351 AATAGCAGAC ACTCTATGCC TGTGTGGAGT AAGAAAAAAC AGTATGTTAT
7401 GATTATAACT GTTATGCCTA CTTATAAAGG TTACAGAATA TTTTTCCTA
7451 ATTTTCTTGT ATAGCAGTGC AGCTTTTTC TTTGTGGTGT AAATAGCAAA
7501 GCAAGCAAGA GTTCTATTAC TAAACACAGC ATGACTCAAA AAACCTTAGCA
5 7551 ATTCTGAAGG AAAGTCCTTG GGGTCTTCTA CCTTCTCTT CTTTTTTGGA
7601 GGAGTAGAAT GTTGAGAGTC AGCAGTAGCC TCATCATCAC TAGATGGCAT
7651 TTCTTCTGAG CAAAACAGGT TTTCTCATT AAAGGCATT CACCACTGCT
7701 CCCATTCATC AGTTCCATAG GTTGGAATCT AAAATACACA AACAAATTAGA
7751 ATCAGTAGTT TAACACATTA TACACTTAAA AATTTTATAT TTACCTTAGA
10 7801 GCTTTAAATC TCTGTAGGTA GTTTGTCCAA TTATGTCACA CCACAGAAGT
7851 AAGGTTCCCT CACAAAGATC CGGGACCAA GCGGCCATCG TGCCTCCCCA
7901 CTCCTGCAGT TCGGGGGCAT GGATGCGCGG ATAGCCGCTG CTGGTTTCCT
7951 GGATGCCGAC GGATTTGCAC TGCCGGTAGA ACTCCGCGAG GTCGTCCAGC
8001 CTCAGGCAGC AGCTGAACCA ACTCGCGAGG GGATCGAGCC CGGGGTGGGC
15 8051 GAAGAACTCC AGCATGAGAT CCCCGCGCTG GAGGATCATC CAGCCGGCGT
8101 CCCGAAAAAC GATTCCGAAG CCCAACCTTT CATAGAAGGC GGCGGTGGAA
8151 TCGAAATCTC GTGATGGCAG GTTGGGCGTC GCTTGGTCGG TCATTTCGAA
8201 CCCCAGAGTC CCGCTCAGAA GAACTCGTCA AGAAGGCGAT AGAAGGCGAT
8251 GCGCTGCGAA TCGGGAGCGG CGATACCGTA AAGCACGAGG AAGCGGTCAG
20 8301 CCCATTCGCC GCCAAGCTCT TCAGCAATAT CACGGGTAGC CAACGCTATG
8351 TCCTGATAGC GGTCCGCCAC ACCCAGCCGG CCACAGTCGA TGAATCCAGA
8401 AAAGCGGCCA TTTTCCACCA TGATATTGG CAAGCAGGCA TCGCCATGGG
8451 TCACGACGAG ATCCTCGCCG TCGGGCATGC GCGCCTTGAG CCTGGCGAAC
8501 AGTTCGGCTG GCGCGAGCCC CTGATGCTCT TCGTCCAGAT CATCCTGATC
25 8551 GACAAGACCG GCTTCATCC GAGTACGTGC TCGCTCGATG CGATGTTTCG
8601 CTTGGTGGTC GAATGGGCAG GTAGCCGGAT CAAGCGTATG CAGCCGCCGC
8651 ATTGCATCAG CCATGATGGA TACTTTCTCG GCAGGAGCAA GGTGAGATGA
8701 CAGGAGATCC TGCCCCGGCA CTTCCGCCAA TAGCAGCCAG TCCCTTCCCC
8751 CTTCAGTGAC AACGTCGAGC ACAGCTGCGC AAGGAACGCC CGTCGTGGCC
30 8801 AGCCACGATA GCCGCGCTGC CTCGTCTGCG AGTTCATTCA GGGCACCGGA
8851 CAGGTGCGTC TTGACAAAAA GAACCGGGCG CCCCTGCGCT GACAGCCGGA
8901 ACACGGCGGC ATCAGAGCAG CCGATTGTCT GTTGTGCCCA GTCATAGCCG
8951 AATAGCCTCT CCACCCAAGC GGCCGGAGAA CTGCGTGCA ATCCATCTTG

- 57 -

9001 TTCAATCATG CGAAACGATC CTCATCCTGT CTCTTGATCA GATCTTGATC
9051 CCCTGCGCCA TCAGATCCTT GCGGCAAGA AAGCCATCCA GTTTACTTTG
9101 CAGGGCTTCC CAACCTTACC AGAGGGCGCC CCAGCTGGCA ATTCCGGTTC
9151 GCTTGCTGTC CATAAAACCG CCCAGTCTAG CTATCGCCAT GTAAGCCCAC
5 9201 TGCAAGCTAC CTGCTTTCTC TTTGCGCTTG CGTTTTCCCT TGTCCAGATA
9251 GCCCAGTAGC TGACATTCAT CCGGGGTCAG CACCGTTTCT GCGGACTGGC
9301 TTTCTACGTG TTCCGCTTCC TTTAGCAGCC CTTGCGCCCT GAGTGCTTGC
9351 GGCAGCGTGA AG

10

- 58 -

Claims

1. A binding molecule comprising at least one antigen binding site, comprising in sequence the hypervariable regions CDR1, CDR2 and CDR3, said CDR1 having the amino acid
5 sequence Asn-Tyr-Ile-Ile-His (NYIIH), said CDR2 having the amino acid sequence Tyr-Phe-Asn-Pro-Tyr-Asn-His-Gly-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe -Lys-Gly (YFNPYNHGTYNEKFKG) and said CDR3 having the amino acid sequence Ser-Gly-Pro-Tyr-Ala-Trp-Phe-Asp-Thr (SGPYAWFDT).
- 10 2. A binding molecule according to claim 1 comprising
 - a) a first domain comprising in sequence the hypervariable regions CDR1, CDR2 and CDR3, said CDR1 having the amino acid sequence Asn-Tyr-Ile-Ile-His (NYIIH), said CDR2 having the amino acid sequence Tyr-Phe-Asn-Pro-Tyr-Asn-His-Gly-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe -Lys-Gly (YFNPYNHGTYNEKFKG) and said CDR3 having the
15 amino acid sequence Ser-Gly-Pro-Tyr-Ala-Trp-Phe-Asp-Thr (SGPYAWFDT); and
 - b) a second domain comprising in sequence the hypervariable regions CDR1', CDR2' and CDR3', CDR1' having the amino acid sequence Arg-Ala-Ser-Gln-Asn-Ile-Gly-Thr-Ser-Ile-Gln (RASQNGTSLQ), CDR2' having the amino acid sequence Ser-Ser-Ser-Glu-Ser-Ile-Ser (SSSESIS) and CDR3' having the amino acid sequence Gln-Gln-Ser-Asn-Thr-Trp-Pro-Phe-Thr (QQSNTWPFT).
20
3. A binding molecule according to any one of claims 1 or 2, which is a chimeric or humanised monoclonal antibody.
- 25 4. A binding molecule according to any one of claims 1 or 2, comprising a polypeptide of SEQ ID NO:1 and/or a polypeptide of SEQ ID NO:2.
5. A binding molecule according to any one of claims 1 or 2, comprising a polypeptide of SEQ ID NO:3 and/or a polypeptide of SEQ ID NO:4.
- 30 6. A binding molecule according to any one of claims 4 or 5 which is a chimeric monoclonal antibody.

- 59 -

7. A binding molecule which is a humanised antibody comprising a polypeptide of SEQ ID NO:9 or of SEQ ID NO:10 and a polypeptide of SEQ ID NO:7 or of SEQ ID NO:8.
8. A binding molecule which is a humanised antibody comprising
- 5 - a polypeptide of SEQ ID NO:9 and a polypeptide of SEQ ID NO:7,
 - a polypeptide of SEQ ID NO:9 and a polypeptide of SEQ ID NO:8,
 - a polypeptide of SEQ ID NO:10 and a polypeptide of SEQ ID NO:7, or
 - a polypeptide of SEQ ID NO:10 and a polypeptide of SEQ ID NO:8.
- 10 9. Isolated polynucleotides comprising polynucleotides encoding a binding molecule according to any one of claims 1 to 8.
10. Polynucleotides according to claim 9 encoding the amino acid sequence of CDR1, CDR2 and CDR3 according to claim 2 and/or polynucleotides encoding the amino acid
- 15 sequence of CDR1', CDR2' and CDR3' according to claim 2.
11. Polynucleotides comprising a polynucleotide of SEQ ID NO: 5 and/or a polynucleotide of SEQ ID NO: 6.
- 20 12. Polynucleotides comprising polynucleotides encoding a polypeptide of SEQ ID NO:7 or SEQ ID NO:8 and a polypeptide of SEQ ID NO:9 or SEQ ID NO:10.
13. Polynucleotides comprising a polynucleotide of SEQ ID NO:11 or of SEQ ID NO:12 and a polynucleotide of SEQ ID NO:13 or a polynucleotide of SEQ ID NO:14.
- 25 14. An expression vector comprising polynucleotides according to any one of claims 9 to 13.
15. An expression system comprising a polynucleotide according to any one of claims 9 to 13, wherein said expression system or part thereof is capable of producing a
- 30 polypeptide of any one of claims 1 to 8, when said expression system or part thereof is present in a compatible host cell.
16. An isolated host cell which comprises an expression system according to claim 15.

- 60 -

17. Use of a molecule or of a humanised antibody according to any one of claims 1 to 8 as a pharmaceutical.
18. Use according to claim 17 in the treatment and/or prophylaxis of autoimmune diseases, transplant rejection, psoriasis, inflammatory bowel disease and allergies.
19. A pharmaceutical composition comprising a molecule or a humanised antibody according to any one of claims 1 to 8 in association with at least one pharmaceutically acceptable carrier or diluent.
20. A method of treatment and/or prophylaxis of diseases associated with autoimmune diseases, transplant rejection, psoriasis, inflammatory bowel disease and allergies comprising administering to a subject in need of such treatment and/or prophylaxis an effective amount of a molecule or a humanised antibody according to any one of claims 1 to 8.
21. Use of a binding molecule having a binding specificity for both CD45RO and CD45RB in medicine.
22. The use according to claim 21, wherein the binding molecule is a chimeric, a humanised or a fully human monoclonal antibody.
23. The use according to claim 21 or 22, wherein the binding molecule binds to a CD45RO isoform with a dissociation constant (K_d) $<15\text{nM}$.
24. The use according to any of claims 21 to 23, wherein the binding molecule binds to a CD45RB isoform with a dissociation constant (K_d) $<15\text{nM}$.
25. The use according to any of claims 21 to 24, wherein the binding molecule binds CD45 isoforms which
- include the A and B epitopes, but not the C epitope of the CD45 molecule; and/or
 - include the B epitope, but not the A and not the C epitope of the CD45 molecule; and/or
 - isoforms which do not include any one of the A, B or C epitopes of the CD45 molecule.

- 61 -

26. The use according to any of claims 21 to 25, wherein the binding molecule does not bind CD45 isoforms which

- include all of the A, B and C epitopes of the CD45 molecule; and/or
- include both the B and C epitopes, but not the A epitope of the CD45 molecule.

5

27. The use according to any of claims 21 to 26, wherein the binding molecule binds to its target epitope on PEER cells, and wherein said binding is with a $K_d < 15 \text{ nM}$.

10

- 62 -

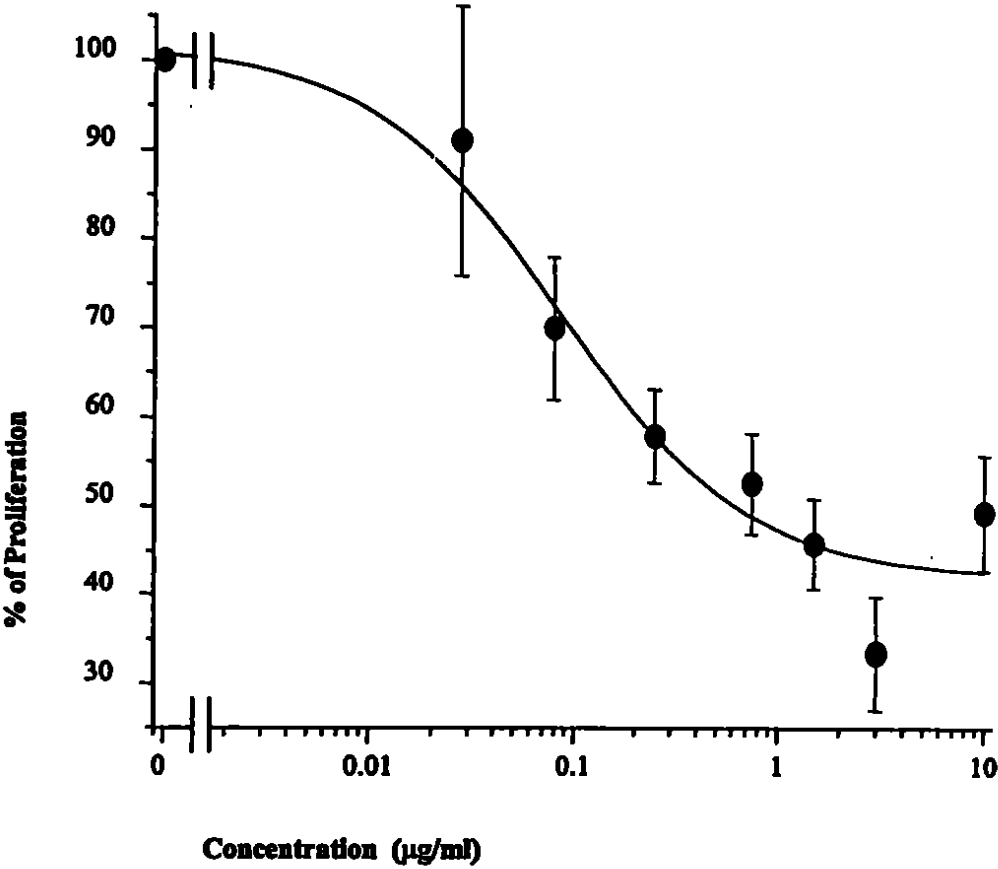
Abstract

5

A molecule comprising at least one antigen binding site, comprising in sequence the hypervariable regions CDR1, CDR2 and CDR3, said CDR1 having the amino acid sequence Asn-Tyr-Ile-Ile-His (NYIIH), said CDR2 having the amino acid sequence Tyr-Phe-Asn-Pro-Tyr-Asn-His-Gly-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe -Lys-Gly (YFNPYNHGTTYNEKFKG) and
10 said CDR3 having the amino acid sequence Ser-Gly-Pro-Tyr-Ala-Trp-Phe-Asp-Thr (SGPYAWFDT); e.g. further comprising in sequence the hypervariable regions CDR1', CDR2' and CDR3', CDR1' having the amino acid sequence Arg-Ala-Ser-Gln-Asn-Ile-Gly-Thr-Ser-Ile-Gln (RASQNIQTSLQ), CDR2' having the amino acid sequence Ser-Ser-Ser-Glu-Ser-Ile-Ser (SSSESIS) and CDR3' having the amino acid sequence Gln-Gln-Ser-Asn-Thr-Trp-
15 Pro-Phe-Thr (QQSNTWPFT), e.g. a chimeric or humanised antibody, useful as a pharmaceutical.

Figure 1/5

5



10

Figure 2/5

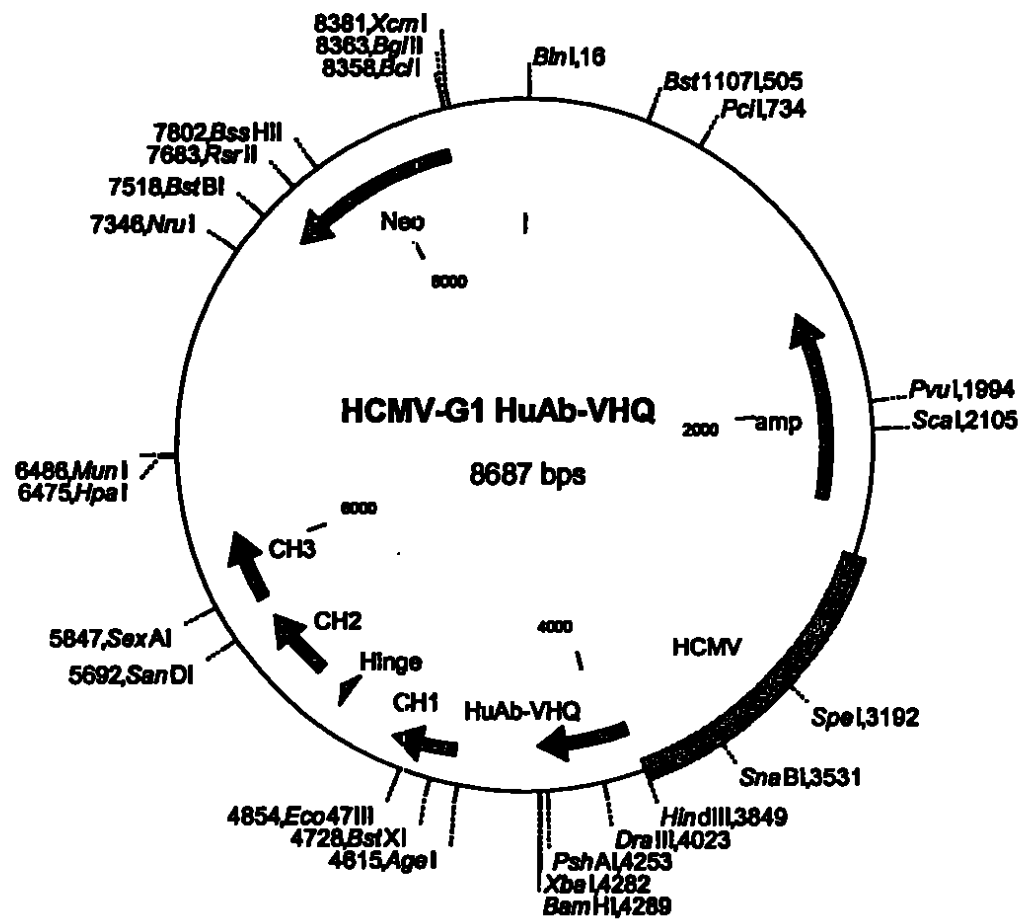


Figure 3/5

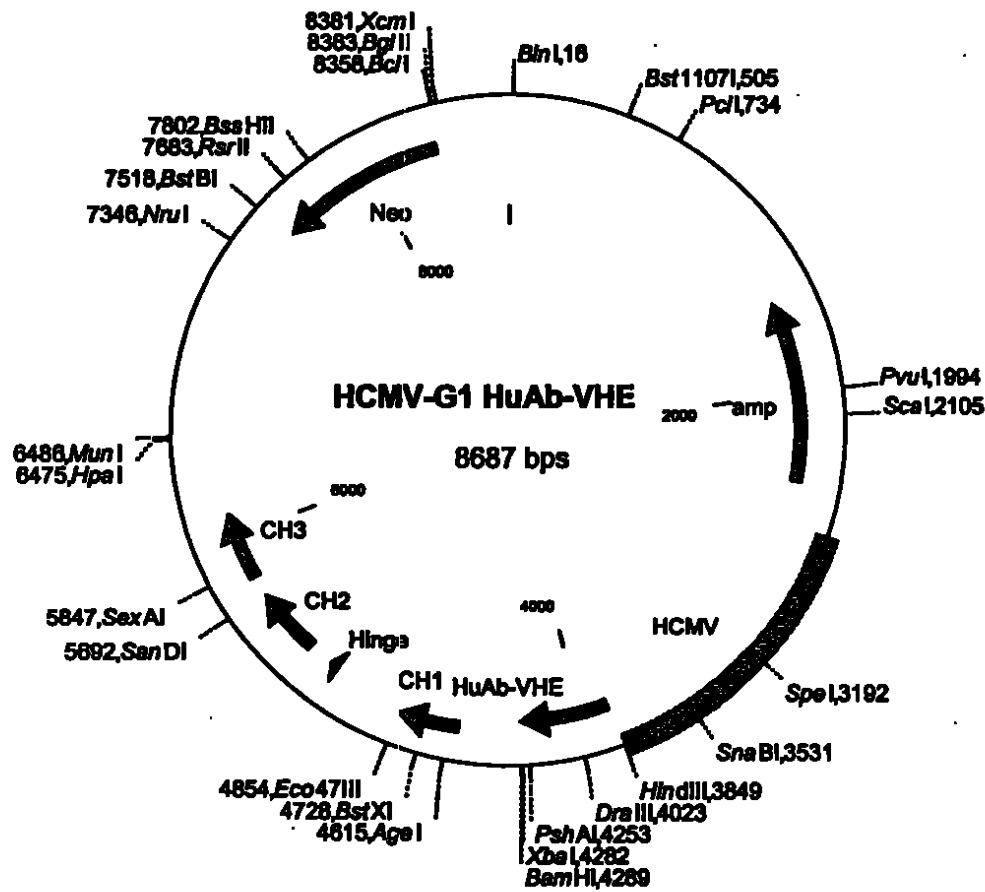
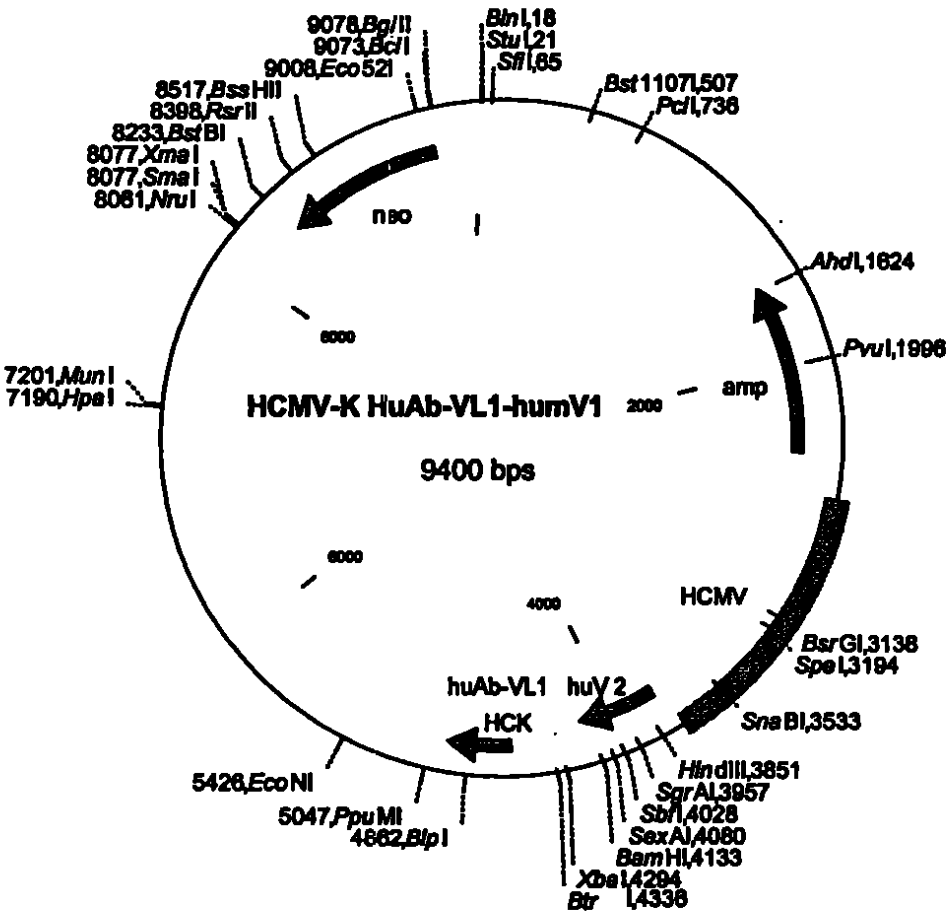
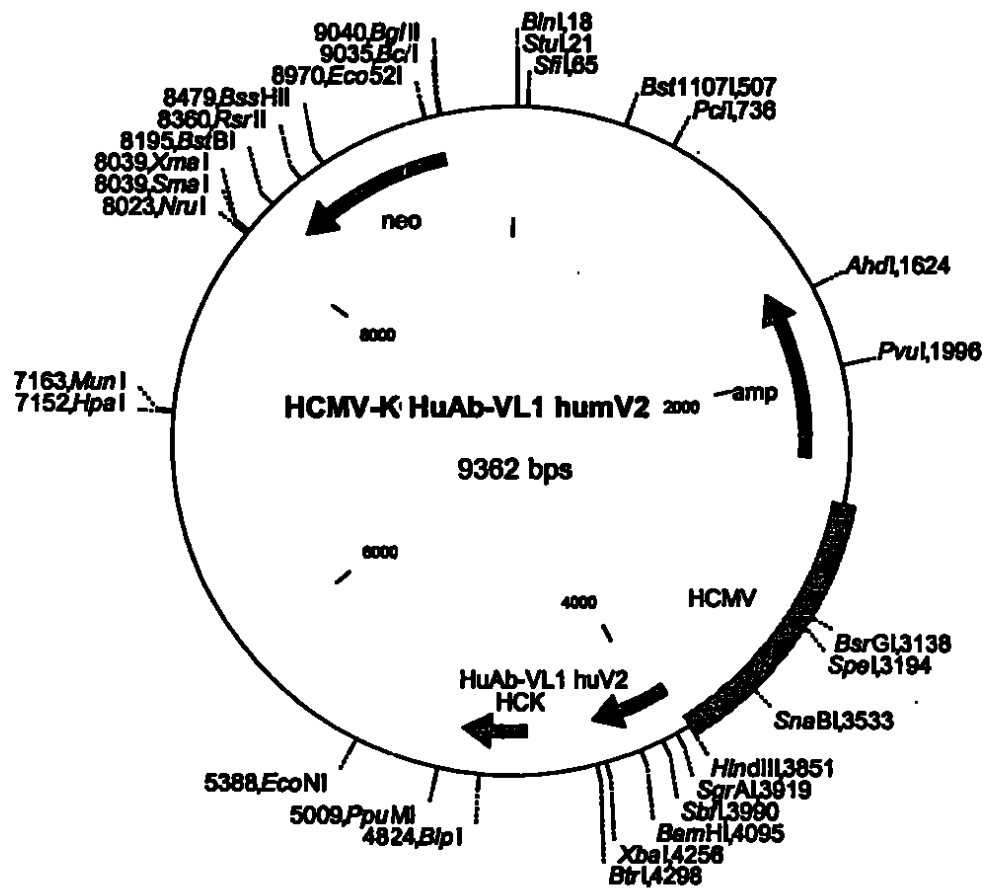


Figure 4/5



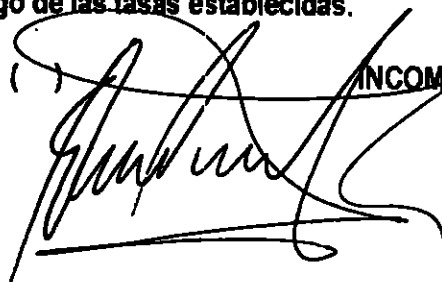
- 67 -

Figure 5/5



REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION		
MODELO DE UTILIDAD		
- Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()
- Descripción de la invención.	()	()
- Dibujos de ser estos pertinentes.	()	()
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()
DISEÑO INDUSTRIAL ()		
- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que Incorpora el diseño.	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()
ESQUEMA DE TRAZADO ()		
- Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado.	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta La solicitud.	()	()
- Representación gráfica del esquema de trazado	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

Firma Responsable: 

Fecha: **SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO**
Radicacion : 03075554 00000000 Folios: 218
Fecha (AMD): 2003-09-01 16:16:18
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

03 075554

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO SISTEMA DE REGISTRO

Fecha 23/10/2003

MANTENIMIENTO DE PROTOCOLOS

Numero : 17398

Fecha : 16/04/1997

Conferido: NOVARTIS AG (NOVARTIS SA) (NOVARTIS INC.)

Pais : CH SUIZA

Ciudad : 3 BASILEA

Represent: S Sustituir: S Desistir: S

No. Radicacion :03 075554 Seev: 0 Seac: 0

Isencia	Codigo	Ctr	Nombre
---------	--------	-----	--------

1	5376		ESCOBAR URIBE JIMENA
---	------	--	----------------------

2	267		ESCOBAR URIBE JIMENA
---	-----	--	----------------------

Encontrados (1/1) registro(s) 06:0 ^



2020
Bogotá, D.C.,

Doctor (a):
JIMENA ESCOBAR URIBE
Apoderado (a)
NOVARTIS A.G.

Oficio N°
09535

ASUNTO:	Radicación N°	03 - 75554
	Solicitud internacional	PCT/EP02/01420
	Fecha inicio fase nacional	12/09/2003
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	430
	Folios	001

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

☐ La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486).

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones.

31 OCT. 2003

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha _____.

~~8/31/10/003~~