SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO6
No. 15-021122- -00000-0000
Fecha: 2015-02-03 15:09:42 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 278

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 13-089514- -00008-0000
Fecha: 2015-02-03 15:09:42 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 278

Delega tura de Prop
División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD DIVISIONAL DE PATENTE DE INVENCION PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

21. EXPEDIENTE No. **13.089.514**

54. TITULO: **ANTICUERPOS QUE SE UNEN A UN FOSFO-EPITOPE EN LA PROTEINA TAU DE MAMIFERO Y FRAGMENTOS FUNCIONALES DEL MISMO Y COMPOSICIONES FARMACEUTICAS QUE COMPRENDEN DICHOS ANTICUERPOS**

52. CLASIFICACION INTERNACIONAL:

71. SOLICITANTE: **1. AC IMMUNE S.A.**
2. KATHOLIEKE UNIVERSITEIT LEUVEN

DOMICILIO: **1. EPFL-PSE Building B, CH-1015 Lausanne, SUIZA**
2. KU Leuven Research & Development
Waaistraat 6 Box 5105, B-3000 Leuven, BELGICA

74. APODERADO: **Dra. MARGARITA CASTELLANOS A.**

22. BOGOTA, D.C., _____

000001

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO6

No. 15-021122- -00000-0000

Fecha: 2015-02-03 15:09:42 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 278

DIRECCION DE NUE
CONVERSION, DIVISION Y I

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-089514- -00008-0000

Fecha: 2015-02-03 15:09:42 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 278

1. Identificación del Trámite

[ ] Conversión [X]

[X] Patente de Invención

[ ] Patente de Modelo de Utilidad

[ ] Registro de Diseño Industrial

[ ] Esquema de Trazado de Circuitos Integrados

2. Datos del solicitante

Persona Natural [ ] Persona Jurídica [X]

1. AC IMMUNE S.A., 2. KATHOLIEKE UNIVERSITEIT LEUVEN
Nombre o Denominación / Nombre social

Nombre del representante legal

Tipo de empresa Micro [ ] Pequeña [ ] Mediana [ ] Otra [ ]

Documento de identificación: [ ] C.C. [ ] C.E. [ ] NIT [ ] Otro Número _____

Nacionalidad/País de constitución		Dirección del titular	Ciudad
1. SUIZA **2. BELGICA**		**1. EPFL-PSE Building B** **2. KU Leuven Research & Development Waaistraat 6 Box 5105**	**1. CH-1015 Laussane** **2. B-3000 Leuven**

Dirección electrónica	No. Fax	Número telefónico

[ ] Autorizo expresamente a la Superintendencia de Industria y Comercio para que todas las comunicaciones sean enviadas a través de la dirección de correo electrónico

3. Datos del representante o apoderado

MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO — Apellidos y Nombre
39.779.654 de Bogotá — Documento de identificación
70.819 de C.S.J. — T.P. No.

Dirección del representante			Ciudad
Calle 94 A No. 7 A - 09			**Bogotá**
Dirección electrónica		No. Fax	Número telefónico
info@castellanosyco.co		**7 550158**	**7 560770**

En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sírvase indicar el número de su radicación o protocolo general _____

4. **Datos del trámite**

CONVERSION	DIVISION	FUSION
Expediente	Expediente 13 089514	Expediente
De:	No. de Divisional UNO (1)	De:
A:		A:

5. **Comprobante de Pago No.** 15-0012217 y 15-0012218 **Fecha** Febrero 2 de 2015

6. **Anexos**

- [X] Comprobantes de pago de las tasas
- [X] Poder, si fuere el caso con el que se acredita la representación
- [ ] Número de documento que ordena la comisión o fusión o división
- [ ] Documento que contiene la conversión, división o fusión de la solicitud
- [X] Texto de la descripción, reivindicaciones y resumen
- [X] CD-R que contiene listado de secuencias

7. **Firma**

MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO
Nombre y Apellidos

Firma

39.779.654 de Bogotá — **C.C.**

70.819 C.S.J. — **T.P.**

P3868 - SOLICITUD DIVISIONAL DE LA P2835

- 3 FEB. 2015

000093

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 15 - 0012217

Bogotá D.C., Febrero 02 de 2015 - 15:05:24

RECIBIDO DE : CASTELLANOS Y Y CO NI 800.174.641

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	686327773	02/02/2015	1.275.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1603 INVOCAR LA NOTORIEDAD DENTRO DE UN TRAMITE DE OPOSICION	478.000.00	478.000.00
				$478.000.00

==========

SON: **CUATROCIENTOS SETENTA Y OCHO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-***-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO6

No. 15-021122- -00000-0000

Fecha: 2015-02-03 15:09:42 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 278

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-089514- -00008-0000

Fecha: 2015-02-03 15:09:42 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 278

000004

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 15 - 0012218

Bogotá D.C., Febrero 02 de 2015 - 15:05:24

RECIBIDO DE : CASTELLANOS Y Y CO NI 800.174.641

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	686327773	02/02/2015	1.275.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
5	50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	32.000.00	160.000.00
				$160.000.00

==========

SON: CIENTO SESENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE*

Responsable: _____

-****-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO6

No. 15-021122- -00000-0000

Fecha: 2015-02-03 15:09:42 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 278

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-089514- -00008-0000

Fecha: 2015-02-03 15:09:42 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 278

CO

COLOMBIA

PODER

El (los)

AC IMMUNE S.A.

Domiciliados en

EPFL-PSE Building B CH-1015 Lausanne, Suiza

Nombran por el presente a **XIMENA CASTELLANOS A. y/o MARGARITA CASTELLANOS A.** abogadas con oficinas en la Calle 94A No. 7A-09, Bogotá-Colombia para

obtener la protección de mi (nuestra) propiedad Industrial e Intelectual y con este fin autorizamos a dichos apoderados para que nos representen ante cualesquiera autoridades o personas de los órdenes administrativo, contencioso – administrativo y judicial en todo lo relacionado con los siguientes actos y gestiones:

a) Obtención de patentes de invención, modelos y dibujos industriales; registro de marcas de fabrica, de servicio, colectivas o defensivas y de denominaciones de origen, depósito de nombres y enseñas comerciales; su renovación, prórroga, inscripción de traspaso y cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria y el registro de licencias de uso de esos derechos;
b) Para la obtención de registros sanitarios;
c) Para la obtención de registros de derechos de autor.
d) Acciones de oposición, observación, cancelación, nulidad, medidas cautelares y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso - administrativos que promovamos o se nos promuevan.

Pudiendo en todos los actos y gestiones arriba mencionados sustituir éste mandato entre los apoderados, transigir, desistir, recibir, cancelar, renunciar, aceptar notificaciones y nombrar apoderados judiciales y extra-judiciales. .

Finalmente, este poder ratifica la validez de todos los actos y solicitudes que, a nombre de la poderdante hubieren realizado los apoderados en relación con las facultades anteriormente enumeradas, antes de la suscripción del presente poder

Dado y firmado hoy 22 Abril 2013

en

por Firmas ilegibles.

POWER OF ATTORNEY

I (we) the undersigned

AC IMMUNE S.A.

Of

EPFL-PSE Building B CH-1015 Lausanne, Switzerland

hereby grant(s) Power of Attorney to **XIMENA CASTELLANOS A. and /or MARGARITA CASTELLANOS A.** attorneys residing at Calle 94A No. 7A-09, Bogotá-Colombia,
obtain the protection of my (our) Intellectual Property, for

which purpose we authorize the said attorneys to represent us before any authorities, or persons, specially those, administrative, contentious and judicial, in all matters concerning the following:

a) Obtainment of patents, models and designs, registration of trademarks, service, collective and defensive marks, and of designations of origin; the deposit of trade names and ensigns; its renewal, extension, recordal of assignments, change of name or domicile, voluntary cancellation, and the registration of licenses of use of the above rights;
b) For the obtainment of Sanitary registrations;
c) For the obtainment of copyright registrations
d) Actions of opposition, cancellation, nullity, infringement, granting of licenses; and in general the civil, criminal and administrative suits related to those rights; actions and suits instituted by us or against us;

In all the above matters they may substitute this power of attorney within the appointed attorneys, compromise, cancel, receive, withdraw, renounce, accept notifications and appoint attorneys in fact in or out of court.

Finally, this power of attorney ratifies the validity of all acts and applications made by the representatives in the name of the signatory of this power of attorney, with regard to the faculties above given, before the execution of the present power of attorney.

Given and signed this 22. April 2013 Lausanne

in

by

PROF. DR. ANDREA PFEIFER

DR. ANDREAS FUHS

CASTELLANOS & Co.
INTELLECTUAL PROPERTY LAW FIRM

CALLE 94 A No. 7 A – 09 / P.O. BOX 6349
PHONE (57 1) 756 07 70 / FAX (57 1) 755 01 58
BOGOTÁ D.C. COLOMBIA
info@castellanosyco.co

COLOMBIA

PODER

El (los)

KATHOLIEKE UNIVERSITEIT LEUVEN

Domiciliados en

KU Leuven Research & Development Waaistraat 6 Box 5105 B-3000 Leuven, Bélgica

Nombran por el presente a **XIMENA CASTELLANOS A. y/o MARGARITA CASTELLANOS A.** abogadas con oficinas en la Calle 94A No 7A-09, Bogotá-Colombia para

obtener la protección de mi (nuestra) propiedad Industrial e intelectual y con este fin autorizamos a dichos apoderados para que nos representen ante cualesquiera autoridades o personas de los órdenes administrativo, contencioso - administrativo y judicial en todo lo relacionado con los siguientes actos y gestiones:

a) Obtención de patentes de invención, modelos y dibujos industriales; registro de marcas de fabrica, de servicio, colectivas o defensivas y de denominaciones de origen, depósito de nombres y enseñas comerciales; su renovación, prórroga, inscripción de traspaso y cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria y el registro de licencias de uso de esos derechos;
b) Para la obtención de registros sanitarios;
c) Para la obtención de registros de derechos de autor.
d) Acciones de oposición, observación, cancelación, nulidad, medidas cautelares y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso - administrativos que promovamos o se nos promuevan.

Pudiendo en todos los actos y gestiones arriba mencionados sustituir éste mandato entre los apoderados, transigir, desistir, recibir, cancelar, renunciar, aceptar notificaciones y nombrar apoderados judiciales y extra-judiciales. .

Finalmente, este poder ratifica la validez de todos los actos y solicitudes que, a nombre de la poderdante hubieren realizado los apoderados en relación con las facultades anteriormente enumeradas, antes de la suscripción del presente poder

Dado y firmado hoy Abril 22 ,2013

en Leuven

por (firmas ilegibles)

POWER OF ATTORNEY

I (we) the undersigned

KATHOLIEKE UNIVERSITEIT LEUVEN

Of

KU Leuven Research & Development Waaistraat 6 Box 5105 B-3000 Leuven, Belgium

hereby grant(s) Power of Attorney to **XIMENA CASTELLANOS A. and /or MARGARITA CASTELLANOS** a. attorneys residing at Calle 94A No. 7A-09, Bogotá-Colombia,
obtain the protection of my (our) Intellectual Property, for

which purpose we authorize the said attorneys to represent us before any authorities, or persons, specially those, administrative, contentious and judicial, in all matters concerning the following:

a) Obtainment of patents, models and designs, registration of trademarks, service, collective and defensive marks, and of designations of origin; the deposit of trade names and ensigns; its renewal, extension, recordal of assignments, change of name or domicile, voluntary cancellation, and the registration of licenses of use of the above rights;
b) For the obtainment of Sanitary registrations;
c) For the obtainment of copyright registrations
d) Actions of opposition, cancellation, nullity, infringement, granting of licenses; and in general the civil, criminal and administrative suits related to those rights; actions and suits instituted by us or against us;

in all the above matters they may substitute this power of attorney within the appointed attorneys, compromise, cancel, receive, withdraw, renounce, accept notifications and appoint attorneys in fact in or out of court.

Finally, this power of attorney ratifies the validity of all acts and applications made by the representatives in the name of the signatory of this power of attorney, with regard to the faculties above given, before the execution of the present power of attorney.

Given and signed this April 22nd 2013

in Leuven

by Dr. Hans GOESAERT
IPR Officer

Paul VAN DUN
General Manager

CASTELLANOS & Co.
INTELLECTUAL PROPERTY LAW FIRM

CALLE 94 A No. 7 A – 09 / P.O. BOX 6349
PHONE (57 1) 756 07 70 / FAX (57 1) 755 01 58
BOGOTÁ D.C. COLOMBIA
info@castellanosyco.co

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	**TESTIGO DOCUMENTAL**	Folio: 7

Dependencia Jerárquica: **Del. Propiedad Industrial** Código: **2000**

Dependencia Productora: Dir. Nuevas Creaciones Código: **2020**

Tipo de Radicación: Entrada: □ Salida: □ Traslado: □ Convenio: □

Radicador:

DESCRIPCIÓN DE LA PRUEBA

Nombre de la Serie / Subserie:	Código:
Expediente: 13-89514-8 15-21122-0	Solicitante / ***Quejoso / Demandante / otros.***
Prueba excluida: cd	
N°. de Pruebas excluidas: 1	
Fecha de emisión de la Prueba:	

UBICACIÓN DE LA PRUEBA EN LA SECCIÓN DE MATERIAL GRÁFICO

N°. de bloque:		Otras especificaciones:
Nº. de rodante:		
Nº. de estante:		
N°. de archivador:		
Nº. de entrepaño:		
Nº. de gaveta:		
N°. de caja:		

IMPORTANTE:

- El material gráfico ***o especial*** que se encuentra ***dentro o anexo a*** las unidades documentales o expedientes, debe extraerse y llevarse a aquella sección del archivo que se haya dispuesto para conservar documentos en distintos formatos.
- Entiéndase por material gráfico todos aquellos dibujos, croquis, mapas, planos, fotografías, ilustraciones, pictografías, códices, prensa, objetos tridimensionales, entre otros.

Observaciones:

El CD Contiene

1 Archivo Pdf el Cual es

Procesado y Cargado al Sistema

Oscar

Unidad de Conservación

- o Bolsa
- o Caja
- o Libro
- o Sobre
- o Tomo
- o Otro

Soporte Documental

- x CD
- o Disquete
- o DVD
- o Folleto
- o Periódico
- o Plano
- o Publicación Periódica
- o USB
- o Otro

ANTICUERPOS QUE SE UNEN A UN FOSFO-EPITOPE EN LA PROTEINA TAU DE MAMIFERO Y FRAGMENTOS FUNCIONALES DEL MISMO Y COMPOSICIONES FARMACEUTICAS QUE COMPRENDEN DICHOS ANTICUERPOS

La presente invención se refiere a métodos y composiciones para el uso terapéutico y de diagnóstico en el tratamiento de enfermedades y trastornos que son causados por ovillos neurofibrilares o están relacionados con ellos. En particular, la invención se refiere a anticuerpos, que específicamente reconocen y se unen a conformadores de proteína tau patológicos fosforilados y con métodos y composiciones que incluyen dichos anticuerpos para el uso terapéutico y diagnóstico en el tratamiento de tauopatías entre las que encuentra la enfermedad de Alzheimer (EA).

Los ovillos neurofibrilares y los hilos de neurópilo (HN) son las características neuropatológicas distintivas principales de la enfermedad de Alzheimer (EA). Están compuestos por la proteína tau asociada a microtúbulos que ha sufrido modificaciones postraduccionales, que incluyen la fosforilación, la desamidación y la isomerización en residuos de asparginilo o aspartilo. Se originan por el agregado de proteína tau hiperfosforilada y sus conformadores. La EA comparte esta patología con muchas tauopatías neurodegenerativas, en especial, con tipos específicos de demencia frontotemporal (DFT).

La proteína tau es una proteína altamente soluble, "naturalmente no plegada" que se une con avidez a los microtúbulos (MT) para promover su unión y estabilidad. Los MT son de suma importancia para la integridad citoesquelética de las neuronas, y por lo tanto, para la formación y funcionamiento adecuados de los circuitos neuronales, por ende, para el aprendizaje y la memoria. La unión de la proteína tau con el MT es controlada por fosforilación y desfosforilación dinámicas, según lo demuestran en especial las células *in vitro* y no neuronales. Debido a la gran cantidad de sitios de fosforilación posibles (>80), la contribución exacta de cada uno y la identidad de las quinasas responsables continúan sin definirse *in vivo*.

En un cerebro con EA, la patología tau se desarrolla con posterioridad a una patología amiloide, y por lo tanto es probable que en respuesta a ella, lo que constituye la esencia de la hipótesis de la cascada amiloide. Esto se basa en los estudios en pacientes con EZ y síndrome de Down y son indicados en ellos, y son corroborados por estudios en ratones transgénicos con patología tau y amiloide combinadas ((Lewis et al., 2001; Oddo et al., 2004; Ribe et al., 2005; Muyllaert et al, 2006; 2008; Terwel et al, 2008).

El preciso momento oportuno de ambas patologías en pacientes humanos con EA así como también los mecanismos que unen patología amiloide y tau continúan siendo desconocidos, pero se propone que involucran una activación de vías de señalización neuronal que actúan en GSK3 y cdk5 o a través de ellas como las "tau quinasas" principales (revisado por Muyllaert et al, 2006, 2008).

La hipótesis de que la tauopatía no es un efecto colateral inocente sino un ejecutor patológico principal en EA se basa en las observaciones genéticas, patológicas y experimentales sólidas que se corroboran entre sí por completo:

- en los casos de EA genética de aparición precoz que se deben a mutaciones en el precursor de la proteína amiloide (PPA) o presenilina, la causa patogénica obligada es la acumulación amiloide, pero invariablemente la patología comprende tauopatía colateral, idéntica a la de los casos de EA esporádica de aparición tardía;
- la gravedad en la disfunción cognitiva y en la demencia se corresponde con la tauopatía, con la patología amiloide, ejemplificado últimamente a través de varios estudios clínicos de fase 1 y 2 que incluyen estudios por imágenes PIB–PET e identifican muchos "falsos positivos"; individuos cognitivamente normales con una alta carga de amiloide cerebral;
- en DFT genético, la tauopatía es provocada por tau mutante y causa neurodegeneración en forma directa, sin patología amiloide;
- en modelos de ratón experimental, los defectos cognitivos ocasionados por patología amiloide son mitigados casi por completo a través de la ausencia de proteína tau (Roberson et al, 2007).

Los diversos argumentos relacionados fundamentan la hipótesis de que la proteína tau ejerce una función principal en la dispersión cognitiva en EA y tauopatías neurodegenerativas relacionadas.

Un nuevo tratamiento destacado de EA es a través de inmunoterapia pasiva con mAbs específicos para limpiar péptidos amiloides y sus agregados que se supone son neurotóxicos o sinaptotóxicos.

De la forma propuesta aquí, se prevé la inmunoterapia que apunta a la patología tau para contrarrestar los conformadores de proteína tau patológicos conocidos o que supuestamente causan disfunción sináptica y neurodegeneración. Se propone que la patología amiloide producida y los agregados intraneuronales de proteína tau hiperfosforilada actúen en forma sinérgica en la cascada cognitiva y degenerativa de eventos patológicos que provocan desde trastorno cognitivo leve (TCL) hasta demencia

grave de EA. Por lo tanto, la combinación de medicación dirigida por tau con la medicación dirigida por amiloide (o cualquier otra) constituye el tratamiento de preferencia y esencialmente el más eficaz para EA, en contraposición a la actual monoterapia.

Otros enfoques terapéuticos que tienen como objetivo la proteína tau son escasos y comprenden principalmente:

- los inhibidores de las quinasas que se cree aumentan la fosforilación de tau a niveles patológicos;
- los compuestos que bloquean la agregación citoplásmica de proteína tau hiperfosforilada.

Estos enfoques sufren varios inconvenientes de especificidad y eficacia, un problema que comparten con intentos para modificar el metabolismo del PPA y del amiloide, donde todo ello hace hincapié en la importancia de una búsqueda continua de opciones de tratamientos adicionales, incluso la inmunoterapia contra tau.

No se ha dedicado prácticamente ningún esfuerzo por definir –y mucho menos poner como objetivo– los conformadores de tau patológicos *in vivo*. En el ensayo clínico Aβ42 de fase II, la patología de ovillo no parecer estar bien considerada ni analizada en demasiada profundidad (Nicoll et al., 2003; Masliah et al., 2005). Por otro lado, el amiloide con objetivo en la inmunoterapia experimental en un modelo de ratón preclínico con patología tipo EA combinada demostró también un efecto en la patología tau aunque los agregados de tau persistieron (Oddo et al., 2004).

Han surgido algunas dudas sobre la posibilidad de abordar la proteína tau intracelular por inmunoterapia. Fueron encontradas por el estudio experimental más reciente en un modelo de ratón de tauopatía (Asuni et al., 2007). Demostraron una reducción en la patología de ovillo y mejoras funcionales por medio de la vacunación con un fosfopéptido derivado de proteína tau. Estos datos corroboran informes previos de α–sinucleína con objetivo en la inmunoterapia en un modelo de enfermedad de Parkinson (EP) y de cuerpos de Lewy (Masliah et al., 2005, 2011) y de superóxido dismutasa en un modelo de esclerosis lateral amiotrófica (ELA) (Urushitiani et al., 2007). Estas enfermedades son ejemplos en los que las proteínas intracelulares llevan a defectos sinápticos y neurodegeneración a través de mecanismos aún no comprendidos por completo. Por otro lado, la proteína tau recombinante de longitud completa producida en bacterias y aislada de ella no parece ser adecuada como vacuna, aunque los adyuvantes empleados, es decir toxina pertussis y completos de Freund, podrían haber contribuido al resultado negativo del estudio (Rosenmann et al., 2006).

Existe una necesidad insatisfecha de inmunoterapias pasivas y/o activas que funcionen para contrarrestar los conformadores de proteína patológicos que se sabe –o presume– causan trastornos neurodegenerativos, tales como la patología amiloide en EA provocada, por ejemplo, por agregados intraneuronales de proteína tau hiperfosforilada típicos para la EA como amiloide.

Esta necesidad insatisfecha podría satisfacerse dentro del alcance de la presente invención mediante la provisión de unión de proteínas que reconozcan y se unan a fosfoepítopes patológicos de la proteína tau. En particular, la presente invención provee anticuerpos específicos contra fosfoepítopes lineales o conformacionales, simples y complejos, en proteína tau, en particular, en proteína tau agregada que son considerados responsables de la sinaptotoxicidad y neurotoxicidad en tauopatías, incluso en EA.

Conforme a ello, la presente invención se refiere en una forma de realización a un péptido de unión o proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular a un fosfo–epítope en la proteína Tau agregada, en particular a un confórmero de proteína tau patológico pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados, en donde dicho péptido de unión o anticuerpo tiene una alta afinidad de unión con la proteína tau soluble e insoluble y modula los niveles de la proteína tau soluble e insoluble, en particular en el cerebro, en particular con una constante de disociación de al menos 10 nM, en particular de al menos 8 nM, en particular de al menos 5 nM, en particular de al menos 2 nM, en particular de al menos 1 nM, en particular de al menos 500 pM, en particular de al menos 400 pM, en particular de al menos 300 pM, en particular de al menos 200 pM, en particular de al menos 100 pM, en particular de al menos 50 pM.

En una segunda forma de realización, la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados, en donde dicho péptido de unión o anticuerpo tiene una

constante de velocidad de asociación de 10^4 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor, en particular de entre 3 – 5 x 10^4 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor, en particular de 10^5 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor; en particular de 2 – 9 x 10^5 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor; en particular de 10^6 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor, en particular de 1 – 4 x 10^6 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor, en particular de 10^7 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor.

En una tercera forma de realización, la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados, en donde dicho péptido de unión o anticuerpo tiene una alta afinidad de unión con una constante de disociación de al menos 4 nM y una constante de velocidad de asociación de 10^5 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor, en particular una constante de disociación de al menos 3 nM y una constante de velocidad de asociación de 10^6 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor, en particular una constante de disociación de al menos 2 nM y una constante de velocidad de asociación de 10^4 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor, en particular una constante de disociación de al menos 1 nM y una constante de velocidad de asociación de 10^5 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor, en particular una constante de disociación de al menos 200 pM y una constante de velocidad de asociación de 10^5 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor, en particular una constante de disociación de al menos 100 pM y una constante de velocidad de asociación de 10^6 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor.

Una forma de realización (4) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo se une con un epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau tal como se indica en SEQ ID NO: 67, seleccionada del grupo que consiste en Tau aa 15–20 que comprende Tyr fosforilada en la posición 18 (Y18), Tau aa 405–412 que comprende Ser fosforilada en la posición 409 (pS409), Tau aa 405–411 que comprende Ser fosforilada en la

posición 409 (pS409); y Tau aa 208–218 que comprende Thr fosforilada en la posición 212 (pT212) y Ser fosforilada en la posición 214 (pS214).

Una forma de realización (5) se refiere al péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, en donde dicho péptido se une con un epítope en un mamífero, en particular en la proteína Tau humana, pero especialmente la proteína Tau humana tal como se indica en SEQ ID NO: 67, que comprende Tau aa 15–20 con Tyr fosforilada en la posición 18 (Y18).

Una forma de realización (6) se refiere al péptido de unión o anticuerpo de cualquiera o las formas de realización precedentes, en donde dicho péptido se une con un epítope en un mamífero, en particular en la proteína Tau humana, pero especialmente la proteína Tau humana tal como se indica en SEQ ID NO: 67, que comprende Tau aa 405–412 con Ser fosforilada en la posición 409 (pS409).

Una forma de realización (7) se refiere al péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, en donde dicho péptido se une con un epítope en un mamífero, en particular en la proteína Tau humana, pero especialmente la proteína Tau humana tal como se indica en SEQ ID NO: 67, que comprende Tau aa 405–411 con Ser fosforilada en la posición 409 (pS409).

Una forma de realización (8) se refiere al péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, en donde dicho péptido se une con un epítope en un mamífero, en particular en la proteína Tau humana, pero especialmente la proteína Tau humana tal como se indica en SEQ ID NO: 67, que comprende Tau aa 208–218 con Thr fosforilada en la posición 212 (pT212) y Ser fosforilada en la posición 214 (pS214).

En otra forma de realización (9), la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene, en particular en secuencia, un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 21, 24, 27, 28, 29, 32, 73, 81, 93, 101, 106, o una secuencia de aminoácido al menos 70%, en particular al menos 80%, en

particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica; un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 22, 25, 30, 33, 74, 82, 94, 102, 107, o una secuencia de aminoácido al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 23, 26, 31, 34, 75, 83, 95, 103, 108, o una secuencia de aminoácido al menos 60%, en particular al menos 70%, en particular al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica; y/o un segundo dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12, 15, 18, 70, 78, 89, 98, o una secuencia de aminoácido al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica; un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 13, 16, 19, 71, 79, 90, 99, 115, o una secuencia de aminoácido al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%,en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 14, 17, 20, 72, 80, 91, 100, o una secuencia de aminoácido al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%,en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica.

Una forma de realización (10) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una

forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: SEQ ID NO: 21, 24, 27, 28, 29, 32, 73, 81, o una secuencia de aminoácido al menos 85% idéntica; un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 22, 25, 30, 33, 74, 82, o una secuencia de aminoácido al menos 95% idéntica y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 23, 26, 31, 34, 75, 83, o una secuencia de aminoácido al menos 80% idéntica; y/o un dominio de anticuerpos que contiene un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12, 15, 18, 70, 78, o una secuencia de aminoácido al menos 95% idéntica; un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 13, 16, 19, 71, 79, o una secuencia de aminoácido al menos 85% idéntica y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 14, 17, 20, 72, 80, o una secuencia de aminoácido al menos 85% idéntica.

Una forma de realización (11) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 21, 24, 27, 28, 29, 32, 73, 81, o una secuencia de aminoácido al menos 90% idéntica; un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 22, 25, 30, 33, 74, 82, o una secuencia de aminoácido al menos 95% idéntica y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 23, 26, 31, 34, 75, 83, o una secuencia de aminoácido al menos 90% idéntica; y/o un segundo dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12, 15, 18, 70, 78, o una secuencia de aminoácido al menos 95% idéntica; un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 13, 16, 19, 71, 79, o una secuencia de aminoácido al menos 95% idéntica y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 14, 17, 20, 72, 80, o una secuencia de aminoácido al menos 90% idéntica.

Una forma de realización (12) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión (dominio de anticuerpo) que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 21, 24, 27, 28, 29, 32, 73, 81, o una secuencia de aminoácido al menos 90% idéntica; un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 22, 25, 30, 33, 74, 82, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 23, 26, 31, 34, 75, 83, o una secuencia de aminoácido al menos 90% idéntica; y/o un segundo dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12, 15, 18, 70, 78, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 13, 16, 19, 71, 79, o una secuencia de aminoácido al menos 95% idéntica y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 14, 17, 20, 72, 80, o una secuencia de aminoácido al menos 90% idéntica.

Una forma de realización (13) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 21, 24, 27, 28, 29, 32, o una secuencia de aminoácido al menos 98% idéntica; un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 22, 25, 30, 33, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 23, 26, 31, 34, o una secuencia de aminoácido al menos 95% idéntica; y/o un segundo dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de

aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12, 15, 18, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 13, 16, 19, o una secuencia de aminoácido al menos 95% idéntica y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 14, 17, 20, o una secuencia de aminoácido al menos 90% idéntica.

Una forma de realización (14) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 21, 24, 27, 28, 29, 32, o una secuencia de aminoácido al menos 98% idéntica; un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 22, 25, 30, 33, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 23, 26, 31, 34, o una secuencia de aminoácido al menos 98% idéntica; y/o un segundo dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12, 15, 18, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 13, 16, 19, o una secuencia de aminoácido al menos 98% idéntica, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 14, 17, 20, o una secuencia de aminoácido al menos 90% idéntica.

Una forma de realización (15) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 21, 24, 27, 28, 29, 32, 73, 81, 93, 101, o 106, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 22, 25, 30, 33, 74, 82,

94, 102, o 107, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 23, 26, 31, 34, 75, 83, 95, 103, o 108, y/o un segundo dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12, 15, 18, 70, 78, 89, o 98, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 13, 16, 19, 71, 79, 90, 99, o 115, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 14, 17, 20, 72, 80, 91, o 100.

Una forma de realización (16) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 21, o una secuencia de aminoácido al menos 76%, en particular al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, en particular al menos 95%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% idéntica, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 22, o una secuencia de aminoácido al menos 95%, en particular 98%, en particular 99% idéntica, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 23, o una secuencia de aminoácido al menos 66%, en particular al menos 70%, en particular al menos 75%, en particular al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, en particular al menos 95%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% idéntica, y/o un segundo dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12, o una secuencia de aminoácido al menos 95%, en particular 98%, en particular 99% idéntica, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 13, o una secuencia de aminoácido al menos 88%, en particular al menos 90%, en particular al menos 95%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% idéntica, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 14, o una secuencia de aminoácido al menos 66%, en particular al menos 70%, en particular al menos 75%, en particular al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, en particular al menos 95%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% idéntica.

Una forma de realización (17) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 24, o SEQ ID NO: 27, o SEQ ID NO: 28, o una secuencia de aminoácido al menos 88%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, en particular al menos 95%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% idéntica, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 25, o una secuencia de aminoácido al menos 95%, en particular 98%, en particular 99% y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 26, o una secuencia de aminoácido al menos 66%, en particular al menos 70%, en particular al menos 75%, en particular al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, en particular al menos 95%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% idéntica y/o un segundo dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12, o una secuencia de aminoácido al menos 95%, en particular 98%, en particular 99% idéntica, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 13, o una secuencia de aminoácido al menos 88%, en particular al menos 90%, en particular al menos 95%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% idéntica, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 14, o una secuencia de aminoácido al menos 66%, en particular al menos 70%, en particular al menos 75%, en particular al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, en particular al menos 95%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% idéntica.

Una forma de realización (18) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con la forma de realización (15) que comprende un primer dominio de unión, en donde el CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 27, o una secuencia de aminoácido al menos 88% idéntica.

Una forma de realización (19) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con forma de realización (15), que comprende un primer dominio de unión en donde el CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 28, o una secuencia de aminoácido al menos 88% idéntica.

Una forma de realización (20) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 29, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 30, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 31, o una secuencia de aminoácido al menos 95%, en particular 98%, en particular 99% idéntica y/o un segundo dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 15, o una secuencia de aminoácido al menos 95%, en particular 98%, en particular 99% idéntica, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 16, o una secuencia de aminoácido al menos 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 17, o una secuencia de aminoácido al menos 36%, en particular al menos 40%, en particular al menos 50%, en particular al menos 60%, en particular al menos 70%, en particular al menos 75%, en particular al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, en particular al menos 95%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% idéntica.

Una forma de realización (21) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus

fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados, en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 32, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 33, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 34, o una secuencia de aminoácido al menos 95%, en particular 98%, en particular 99% idéntica y/o un segundo dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 18, o una secuencia de aminoácido al menos 95%, en particular 98%, en particular 99% idéntica, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 19, o una secuencia de aminoácido al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 20, o una secuencia de aminoácido al menos 63%, en particular al menos 70%, en particular al menos 75%, en particular al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, en particular al menos 95%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% idéntica.

Una forma de realización (22) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 73, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 74, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 75, o una secuencia de aminoácido al menos al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%,en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica y/o un segundo dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 70, o una secuencia de aminoácido al menos 95%, en particular 98%, en particular 99% idéntica, un CDR2

con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 71, o una secuencia de aminoácido al menos 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 72, o una secuencia de aminoácido al menos al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%,en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica.

Una forma de realización (23) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 81, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 82, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 83, o una secuencia de aminoácido al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%,en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica y/o un segundo dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 78, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 79, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 80, o una secuencia de aminoácido al menos al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%,en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica.

Una forma de realización (24) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes,

cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 93, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 94, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 95, o una secuencia de aminoácido al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%,en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica a cualquiera de los anteriores CDRs y/o un segundo dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 89, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 90, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 91, o una secuencia de aminoácido al menos al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%,en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% % idéntica a cualquiera de los anteriores CDRs.

Una forma de realización (25) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 101, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 102, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 103, o una secuencia de aminoácido al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al

menos 92%, al menos 93%, al menos 94%,en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica a cualquiera de los anteriores CDRs y/o un segundo dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 98, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 99, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 100, o una secuencia de aminoácido al menos al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%,en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% % idéntica a cualquiera de los anteriores CDRs.

Una forma de realización (26) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 106, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 107, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 108, o una secuencia de aminoácido al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%,en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica a cualquiera de los anteriores CDRs y/o un segundo dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 89, un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 115, y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 91, o una secuencia de aminoácido al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%,en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al

menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% % idéntica a cualquiera de los anteriores CDRs.

En otra forma de realización (27), la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados, en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6, 7, 8, 9, 10, 11, o una secuencia de aminoácido al menos 90% idéntica, y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, o una secuencia de aminoácido al menos 85% idéntica.

En una forma de realización (28), la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6, 7, 8, 9, 10, 11, o una secuencia de aminoácido al menos 90% idéntica, y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, o una secuencia de aminoácido al menos 91% idéntica.

Una forma de realización (29) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una

forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión (dominio de anticuerpo) que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6, 7, 8, 9, 10, 11, o una secuencia de aminoácido al menos 95% idéntica; y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, o una secuencia de aminoácido al menos 91% idéntica.

En otra forma de realización (30), la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados, en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 69, 77, 116/92, 97, 105, o una secuencia de aminoácido en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%,en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica, y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 68, 76, 38, 96, 104, o una secuencia de aminoácido al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 86%, en particular al menos 87%, en particular al menos 88%, en particular al menos 89%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%,en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica.

Una forma de realización (31) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una

forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 7, o una secuencia de aminoácido al menos 90% y 94%, respectivamente, idénticas; y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 1, o una secuencia de aminoácido al menos 91% idéntica.

Una forma de realización (32) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8, o una secuencia de aminoácido al menos 95% idéntica; y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 2, o una secuencia de aminoácido al menos 90% idéntica.

Una forma de realización (33) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 9, o una secuencia de aminoácido al menos 95% idéntica; y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 3, o una secuencia de aminoácido al menos 90% idéntica.

Una forma de realización (34) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en

particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 10, o una secuencia de aminoácido al menos 99% idéntica; y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4, o una secuencia de aminoácido al menos 89% idéntica.

Una forma de realización (35) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 11, o una secuencia de aminoácido al menos 98% idéntica; y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 5, o una secuencia de aminoácido al menos 87% idéntica.

Una forma de realización (36) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados, en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 69, o una secuencia de aminoácido al menos 98% o 99% idéntica; y/o un segundo

dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 68 o una secuencia de aminoácido al menos 90%, 91%, 92% o 93% idéntica.

Una forma de realización (37) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de union o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 77 o una secuencia de aminoácido al menos 93%, 94% o 95% idéntica; y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 76, o una secuencia de aminoácido al menos 88%, 89% o 90% idéntica.

Una forma de realización (38) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO 116 92 ó 118, o una secuencia de aminoácido al menos 93%, 94% o 95% idéntica; y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 88, o una secuencia de aminoácido al menos 90%, 91%, 92% o 93% idéntica.

Una forma de realización (39) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus

fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 97, o una secuencia de aminoácido al menos 99% idéntica; y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 96, o una secuencia de aminoácido al menos 86%, 87%, 88%, 89% o 90% idéntica.

Una forma de realización (40) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular con un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 105, o una secuencia de aminoácido al menos 98% o 99% idéntica; y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 104, o una secuencia de aminoácido al menos 88%, 89% o 90% idéntica.

En otra forma de realización (41), la presente invención se refiere a un péptido de unión o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con las formas de realización (22) – (24), en donde dicho primer dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 21–34 y dicho segundo dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 12–20.

Una forma de realización (42) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con forma de realización (31), en donde dicho primer dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 21–23 y SEQ ID NOs: 24–26, respectivamente, y dicho segundo dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 12–14.

Una forma de realización (43) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con forma de

realización (32), en donde dicho primer dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 27, 25, 26 y dicho segundo dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 12–14.

Una forma de realización (44) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con forma de realización (33), en donde dicho primer dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 28, 25 y 26, y dicho segundo dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 12–14.

Una forma de realización (45) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con forma de realización (34), en donde dicho primer dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 29–31, y dicho segundo dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 15–17.

Una forma de realización (46) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con forma de realización (35), en donde dicho primer dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 32–34, y dicho segundo dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 18–20.

Una forma de realización (47) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con forma de realización (27), en donde dicho primer dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 73–75, y dicho segundo dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 70–72.

Una forma de realización (48) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con forma de realización (27), en donde dicho primer dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 81–83, y dicho segundo dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 78–80.

Una forma de realización (49) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un

anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con forma de realización (27), en donde dicho primer dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 101–103, y dicho segundo dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 98–100.

Una forma de realización (50) de la presente invención se refiere a un péptido de unión o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con forma de realización (27), en donde dicho primer dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 89, 115, y 91, y dicho segundo dominio de unión contiene los CDRs tal como se indica en SEQ ID NOs: 106–108.

En otra forma de realización más (51), la presente invención se refiere a un péptido de unión o una proteína o una de sus partes funcionales, en particular a un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, en particular un péptido de unión o anticuerpo de cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados en donde dicho péptido de unión o anticuerpo comprende

a. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 1; o

b. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 7 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 1; o

c. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 2; o

d. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 9 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 3; o

e. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 10 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4; o

f. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 11 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 5; o

g. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 69 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 68; o

h. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 77 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 76; o

i. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 116 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 38; o

j. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 92 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 88; o

k. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 97 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6; o

l. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 105 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 104.

En una forma de realización (52) de la invención, el péptido de unión de cualquiera de las formas de realización precedentes es un anticuerpo, en particular un anticuerpo del isotipo IgG2a, IgG2b o IgG3, en particular un anticuerpo policlonal, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo completamente humano.

Una forma de realización (48) de la invención se refiere a un polinucleótido que codifica el péptido de unión de cualquiera de las formas de realización precedentes.

En una forma de realización (53), dicho polinucleótido comprende una molécula de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en

a. una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos tal como se indica en SEQ ID NOs: 35–45, SEQ ID NOs: 84–87, SEQ ID NO: 109–112 y 117;

b. una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos el 85% de identidad de secuencia con la secuencia mostrada en SEQ ID NOs: 35–45, SEQ ID NOs: 84–87, SEQ ID NO: 109–112 y 117;

c. una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos el 90% de identidad de secuencia con la secuencia mostrada en SEQ ID NOs: 35–45, SEQ ID NOs: 84–87, SEQ ID NO: 109–112 y 117;

d. una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos el 95% de identidad de secuencia con la secuencia mostrada en SEQ ID NOs: 35–45, SEQ ID NOs: 84–87, SEQ ID NO: 109–112 y 117;

e. una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos el 98% de identidad de secuencia con la secuencia mostrada en SEQ ID NOs: 35–45, SEQ ID NOs: 84–87, SEQ ID NO: 109–112 y 117;

f. una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos el 99% de identidad de secuencia con la secuencia mostrada en SEQ ID NOs: 35–45, SEQ ID NOs: 84–87, SEQ ID NO: 109–112 y 117;

g. una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos, cuya cadena complementaria hibrida en la molécula de ácido nucleico de cualquiera de a) – f);

h. una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que se desvía de la secuencia de nucleótidos definida en cualquiera de a) – g) por degeneración del código genético,

en donde dicha molécula de ácido nucleico tal como se define en cualquiera de a) – h) reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular en la proteína humana Tau tal como se indica en SEQ ID NO: 67, seleccionada del grupo que consiste en Tau aa 15–20 que comprende Tyr fosforilada en la posición 18 (Y18), Tau aa 405–412 que comprende Ser fosforilada en la posición 409 (pS409), Tau aa 405–411 que comprende Ser fosforilada en la posición 409 (pS409); y Tau aa 208–218 que comprende Thr fosforilada en la posición 212 (pT212) y Ser fosforilada en la posición 214 (pS214), Tau aa 393–401, que comprende Ser fosforilada en la posición 396 (pS396), Tau aa 396–401 que comprende Ser fosforilada en la posición 396 (pS396), Tau aa 394–400 que comprende Ser fosforilada en la posición 396 (pS396), Tau aa 402–406 que comprende Ser fosforilada en la posición 404 (pS404), y Tau aa 393–400 que comprende Ser fosforilada en la posición 396 (pS396), en donde, en una forma de realización, dicho péptido de unión tiene una alta afinidad de unión con una constante de disociación de al menos 10 nM, en

particular de al menos 8 nM, en particular de al menos 5 nM, en particular de al menos 2 nM, en particular de al menos 1 nM, en particular de al menos 500 pM, en particular de al menos 400 pM, en particular de al menos 300 pM, en particular de al menos 200 pM, en particular de al menos 100 pM, en particular de al menos 50 pM y/o tiene una constante de velocidad de asociación de 10^4 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor, en particular de entre 3 – 5 x 10^4 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor, en particular de 10^5 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor; en particular de 6 – 9 x 10^5 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor; en particular de 10^6 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor, en particular de 1 – 4 x 10^6 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor, en particular de 10^7 $M^{-1}s^{-1}$ o mayor, pero, en una forma de realización, no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados.

En varias formas de realización (54) de la invención, se provee un péptido de unión o una parte funcional de él, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una parte funcional de él, o un polinucleótido, de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores, o una combinación de ellos, que sea capaz de reconocer específicamente y de unirse a un fosfoepítope en un mamífero, en particular en la proteína humana tau, en particular una proteína tau asociada a microtúbulos, en particular una proteína tau hiperfosforilada y asociada a microtúbulos agregados como la presente en los filamentos helicoidales pareados (FHP), que son las estructuras predominantes en ovillos neurofibrilares, hilos de neurópilo y neuritis distrófica, pero en una forma de realización, no se une con el epítope no fosforilado correspondiente y/o con epítopes no relacionados.

En una forma de realización específica (55) de la invención, la proteína humana tau es la proteína humana tau mostrada en la SEQ ID NO: 67.

De esta manera, los péptidos de unión y los anticuerpos de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores pueden ser usados (56) para reducir los niveles de proteína tau soluble total, en particular, de proteína tau fosforilada soluble, en el cerebro, en particular, en la corteza cerebral y/o hipocampo de un mamífero o de un ser humano que contenga niveles aumentados de proteína tau soluble y/o proteína tau fosforilada soluble.

Los péptidos de unión y los anticuerpos de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores también pueden ser usados (57) para reducir los niveles de filamentos helicoidales pareados que contienen proteína tau hiperfosforilada (pTau PHF) en el cerebro, en particular, en la corteza cerebral y/o hipocampo de un mamífero o de un ser humano que contenga niveles aumentados de dichos filamentos helicoidales pareados de proteína tau (pTau PHF).

La reducción en el nivel de proteína tau soluble total y/o proteína tau fosforilada soluble y/o filamentos helicoidales pareados de pTau (pTau PHF) en el cerebro, en particular en la corteza cerebral y/o hipocampo de un mamífero o de un ser humano que contenga niveles aumentados de dichas variantes de proteínas tau, que contribuyen a enfermedades, trastornos o estados asociados con la proteína tau en tales mamíferos o seres humanos, puede llevar a una mejora y/o mitigación de los síntomas asociados con dichas enfermedades, trastornos o estados asociados con la proteína tau (58).

Por lo tanto, los péptidos de unión y los anticuerpos de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores pueden ser usados (59) en terapia, en particular, en terapia con seres humanos, para retardar o detener el avance de una enfermedad, trastorno o estado asociado con la proteína tau.

Los péptidos de unión y los anticuerpos de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores pueden ser usados (60), además, en terapia, en particular, en terapia con seres humanos, para mejorar o mitigar los síntomas asociados con enfermedades, trastornos o estados asociados con la proteína tau como ser, por ejemplo, el deterioro o la pérdida de funciones cognitivas que incluyen el razonamiento, el juicio situacional, la capacidad de la memoria, el aprendizaje, la navegación espacial, etc.

En una forma de realización (61), la invención se refiere a los péptidos de unión y a los anticuerpos de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores para su uso en terapia, en particular, para su uso en el tratamiento de tauopatías, un grupo de enfermedades y trastornos asociados con la proteína tau, o para mitigar los síntomas asociados con tauopatías.

En una forma de realización (62), la invención se refiere a los péptidos de unión y a anticuerpos de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores para mantener o aumentar la capacidad de la memoria cognitiva en un mamífero que sufre de una tauopatía.

En una forma de realización específica (63) de la invención, los péptidos de unión y los anticuerpos que comprenden al menos uno o la totalidad de los CDRs de cadena ligera de anticuerpos ACI-36-2B6-Ab1, ACI-36-2B6-Ab2, ACI-36-3A8-Ab1 y ACI-36-3A8-Ab2 de acuerdo con lo dado por las SEQ ID NOs: 25, 26, 27 y SEQ ID NOs: 21, 22, 23, respectivamente, y/o al menos uno o la totalidad de los CDRs de cadena pesada de anticuerpos ACI-36-2B6-Ab1, ACI-36-2B6-Ab2, ACI-36-3A8-Ab1 y ACI-36-3A8-Ab2 de acuerdo con lo dado por las SEQ ID NOs: 12, 13, 14, son empleados en terapia, en particular en terapia con seres humanos, para mejorar o mitigar los síntomas asociados con enfermedades, trastornos o estados asociados con la proteína tau como ser, por

ejemplo, el deterioro o la pérdida de funciones cognitivas entre las que se incluyen el razonamiento, el juicio situacional, la memoria, el aprendizaje, la navegación espacial, etc.

En una forma de realización específica (64) de la invención, los anticuerpos que comprenden la cadena ligera de anticuerpos ACI–36–2B6–Ab1, ACI–36–2B6–Ab2, ACI–36–3A8–Ab1 y ACI–36–3A8–Ab2 de acuerdo con lo dado por las SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NOs: 6, 7, respectivamente, y/o la cadena pesada de anticuerpos ACI–36–2B6–Ab1, ACI–36–2B6–Ab12, ACI–36–3A8–Ab1 y ACI–36–3A8–Ab2 de acuerdo con lo dado por las SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2, respectivamente, son empleados en terapia, en particular en terapia con seres humanos, para mejorar o mitigar los síntomas asociados con enfermedades, trastornos o estados asociados con la proteína tau como ser, por ejemplo, el deterioro o la pérdida de funciones cognitivas entre las que se incluyen el razonamiento, el juicio situacional, la memoria, el aprendizaje, la navegación espacial, etc.

En una forma de realización específica (65) de la invención, los péptidos de unión y los anticuerpos que comprenden al menos uno o la totalidad de los CDRs de cadena ligera de anticuerpos ACI–33–6C10–Ab1 y ACI–33–6C10–Ab2 de acuerdo con lo dado por las SEQ ID NOs: 29, 30, 31, y/o al menos uno o la totalidad de los CDRs de cadena pesada de anticuerpos ACI–33–6C10–Ab1 y ACI–33–6C10–Ab2 de acuerdo con lo dado por las SEQ ID NOs: 15, 16, 17, son empleados en terapia, en particular en terapia con seres humanos, para mejorar o mitigar los síntomas asociados con enfermedades, trastornos o estados asociados con la proteína tau como ser, por ejemplo, el deterioro o la pérdida de funciones cognitivas entre las que se incluyen el razonamiento, el juicio situacional, la memoria, el aprendizaje, la navegación espacial, etc.

En una forma de realización específica (66) de la invención, los péptidos de unión y los anticuerpos que comprenden al menos uno o la totalidad de los CDRs de cadena ligera de anticuerpos ACI–41–7C2–Ab1 y ACI–41–7C2–Ab2 de acuerdo con lo dado por las SEQ ID NOs: 32, 33, 34, y/o al menos uno o la totalidad de los CDRs de cadena pesada de anticuerpos ACI–41–7C2–Ab1 y ACI–41–7C2–Ab2 de acuerdo con lo dado por las SEQ ID NOs: 18, 19, 20, son empleados en terapia, en particular en terapia con seres humanos, para mejorar o mitigar los síntomas asociados con enfermedades, trastornos o estados asociados con la proteína tau como ser, por ejemplo, el deterioro o la pérdida de funciones cognitivas entre las que se incluyen el razonamiento, el juicio situacional, la memoria, el aprendizaje, la navegación espacial, etc.

En una forma de realización específica (67) de la invención, los péptidos de unión y los anticuerpos que comprenden al menos uno o la totalidad de los CDRs de cadena ligera de anticuerpos ACI-35-2A1-Ab1; ACI-35-2A1-Ab2; ACI-35-4A6-Ab1; ACI-35-4A6-Ab2; ACI-35-1D2-Ab1; ACI-35-2G5-Ab1; de acuerdo con lo dado por las SEQ ID NOs: 73-75, 81-83, 93-95, 101-103, 106-108, y/o al menos uno o la totalidad de los CDRs de cadena pesada de anticuerpos ACI-35-2A1-Ab1; ACI-35-2A1-Ab2; ACI-35-4A6-Ab1; ACI-35-4A6-Ab2; ACI-35-1D2-Ab1; ACI-35-2G5-Ab1; de acuerdo con lo dado por las SEQ ID NOs: 70-72, 78-80, 89-91, 98-100, son empleados en terapia, en particular en terapia con seres humanos, para mejorar o mitigar los síntomas asociados con enfermedades, trastornos o estados asociados con la proteína tau como ser, por ejemplo, el deterioro o la pérdida de funciones cognitivas entre las que se incluyen el razonamiento, el juicio situacional, la memoria, el aprendizaje, la navegación espacial, etc.

En una forma de realización específica (68) de la invención, los péptidos de unión y los anticuerpos que comprenden al menos uno o la totalidad de los CDRs de cadena ligera de anticuerpos ACI-35-2G5-Ab2; ACI-35-2G5-Ab3 de acuerdo con lo dado por las SEQ ID NOs: 106-108, y/o al menos uno o la totalidad de los CDRs de cadena pesada de anticuerpos ACI-35-2G5-Ab2; ACI-35-2G5-Ab3; de acuerdo con lo dado por las SEQ ID NOs: 39, 115 y 91, son empleados en terapia, en particular en terapia con seres humanos, para mejorar o mitigar los síntomas asociados con enfermedades, trastornos o estados asociados con la proteína tau como ser, por ejemplo, el deterioro o la pérdida de funciones cognitivas entre las que se incluyen el razonamiento, el juicio situacional, la memoria, el aprendizaje, la navegación espacial, etc.

La unión de los péptidos o anticuerpos de acuerdo con las formas de realización anteriores en ovillos de tau y pTau en el cerebro puede ser determinada mediante la aplicación de una prueba de inmunorreactividad de proteína de partes elegidas de cerebro y por transferencia Western de homogenatos de tejido cerebral, respectivamente, de acuerdo con lo descripto en los Ejemplos.

En otra forma de realización (69) la presente invención provee una composición farmacéutica que comprende un péptido de unión o una parte funcional de él, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una parte funcional de él, o un polinucleótido, de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores, o una combinación de ellos, en una cantidad efectiva desde el punto de vista terapéutico junto con un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

En una forma de realización (70), el péptido de unión o una parte funcional de él, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una parte funcional de él, o un polinucleótido, o una composición farmacéutica, de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores, o una combinación de ellos, es empleado en terapia, en particular en terapia con humanos para el tratamiento o mitigación de los síntomas de enfermedades o trastornos asociados con la proteína tau que incluyen trastornos neurodegenerativos tales como las tauopatías.

De esta forma, los péptidos de unión, los anticuerpos y/o las composiciones farmacéuticas de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores pueden ser usados (71) para retardar o detener el avance de una enfermedad, trastorno o estado asociado a la proteína tau, mediante la administración de dichos péptidos de unión, anticuerpos y/o composiciones farmacéuticas a una animal, en particular a un mamífero, en particular a un ser humano, que sufra de una enfermedad o estado como este.

Además, los péptidos de unión, los anticuerpos y/o las composiciones farmacéuticas de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores pueden ser usados (72) para mejorar o mitigar los síntomas asociados con enfermedades, trastornos o estados asociados a la proteína tau, como ser, por ejemplo, el deterioro o la pérdida de funciones cognitivas que incluyen el razonamiento, el juicio situacional, la capacidad de memoria, el aprendizaje, la navegación espacial, etc., mediante la administración de dichos péptidos de unión, anticuerpos y/o composiciones farmacéuticas a una animal, en particular a un mamífero, en particular a un ser humano, que sufra de una enfermedad o estado como este.

En una forma de realización (73), el péptido de unión o una parte funcional de él, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una parte funcional del él, o un polinucleótido o una composición farmacéutica, de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores, o una combinación de ellos, es usado en el tratamiento de enfermedades y trastornos que son provocados por la formación de lesiones neurofibrilares o están asociados con ella, donde la patología cerebral predominante en tauopatía comprende un grupo heterogéneo de enfermedades o trastornos neurodegenerativos que incluyen enfermedades o trastornos que muestran coexistencia con patologías tau y amiloide que incluyen, sin que la enumeración sea taxativa, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Creutzfeldt–Jacob, demencia pugilística, síndrome de Down, enfermedad de Gerstmann–Sträussler–Scheinker, miositis por cuerpos de inclusión y angiopatía amiloide cerebral por proteína priónica, lesión

cerebral traumática y otras enfermedades o trastornos que no muestran una patología amiloide distinta que incluyen, pero sin que la enumeración sea taxativa, esclerosis lateral amiotrófica/complejo parkinsonismo–demencia de Guam, enfermedad neuromotriz no Guam con ovillos neurofibrilares, demencia con gránulos argirofílicos, degeneración corticobasal, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, demencia frontotemporal con parkinsonismo vinculado al cromosoma 17, enfermedad de Hallevorden–Spatz, atrofia de múltiples sistemas, enfermedad de Niemann–Pick, tipo C, degeneración palido–ponto–nigral, enfermedad de Pick, gliosis subcortical progresiva, parálisis supranuclear progresiva, demencia por ovillos neurofibrilares, parkinsonismo postencefálico, distrofia miotónica.

En una forma de realización (74), el péptido de unión o una parte funcional de él, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una parte funcional de él, o un polinucleótido o una composición farmacéutica, de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores, o una combinación de ellas, es usado en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

En una forma de realización (75) de la invención, se provee un método para modular los niveles de proteína tau soluble y/o insoluble, en particular en el cerebro, en particular en la corteza cerebral y/o en el hipocampo de un animal, en particular un mamífero o un ser humano, que comprende la administración a dicho animal, en particular a dicho mamífero o ser humano, del péptido de unión o una parte funcional de él, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una parte funcional de él, o un polinucleótido o una composición farmacéutica, de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores, o una combinación de ellas.

En un aspecto, la modulación se refiere a la reducción de los niveles de la proteína tau soluble, en particular de la proteína tau fosforilada soluble, en el cerebro, en particular en la corteza cerebral y/o el hipocampo, de un animal, en particular un mamífero o un ser humano que contiene niveles incrementados de la proteína tau soluble y/o la proteína tau fosforilada soluble.

En una forma de realización (76) de la invención, se provee un método para reducir los niveles de la proteína tau insoluble, en particular de filamentos helicoidales pareados que contienen proteína tau hiperfosforilada (pTau PHF), en el cerebro, en particular en la corteza cerebral y/o en el hipocampo de un animal, en particular un mamífero o un ser humano que contenga niveles aumentados de la proteína tau insoluble, en particular de los filamentos helicoidales pareados de proteína tau (pTau PHF), que comprende la administración a dicho animal, en particular a dicho mamífero o

ser humano, del péptido de unión o una parte funcional de él, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una parte funcional de él, o un polinucleótido o una composición farmacéutica, de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores, o una combinación de ellas.

En una forma de realización (77), la presente invención se refiere a un método para retardar o detener el avance de una enfermedad, trastorno o estado asociado con la proteína tau, en particular de un mamífero o de un ser humano, que comprende la administración a dicho animal, en particular a dicho mamífero o ser humano, que sufre de una enfermedad o estado como este, del péptido de unión o una parte funcional de él, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una parte funcional de él, o un polinucleótido o una composición farmacéutica, de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores, o una combinación de ellos.

En una forma de realización (78), la presente invención se refiere a un método para mejorar o mitigar los síntomas asociados con enfermedades, trastornos o estados asociados con la proteína tau, como ser, por ejemplo, el deterioro o la pérdida de funciones cognitivas que incluyen el razonamiento, el juicio situacional, la capacidad de memoria, el aprendizaje, la navegación espacial, etc., en un animal, en particular de un mamífero o de un ser humano, que comprende la administración a dicho animal, en particular a dicho mamífero o ser humano, que sufre de una enfermedad o estado como este, del péptido de unión o una parte funcional de él, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una parte funcional de él, o un polinucleótido o una composición farmacéutica, de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores, o una combinación de ellos.

En una forma de realización (79), la presente invención se refiere a un método para conservar o aumentar la capacidad de memoria cognitiva en un mamífero que sufre de una tauopatía.

En otra forma de realización (80) de la presente invención, se provee un método para el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína tau que incluye una enfermedad o un trastorno neurodegenerativo como ser una tauopatía que comprende la administración a un animal, en particular a un mamífero, pero en especial a un ser humano, que sufre de una enfermedad o estado como este, del péptido de unión o una parte funcional de él, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una parte funcional de él, o un polinucleótido o una composición farmacéutica, de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores, o una combinación de ellos.

En una forma de realización (81) de la invención, se provee un método para el tratamiento de enfermedades y trastornos que son causados por la formación de lesiones neurofibrilares o están asociados con ella, donde la patología cerebral predominante en tauopatía comprende un grupo heterogéneo de enfermedades o trastornos neurodegenerativos que incluyen enfermedades o trastornos que muestran coexistencia con patologías tau y amiloides que incluyen, sin que la enumeración sea taxativa, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Creutzfeldt–Jacob, demencia pugilística, síndrome de Down, enfermedad de Gerstmann–Sträussler–Scheinker, miositis por cuerpos de inclusión y angiopatía amiloide cerebral por proteína priónica, lesión cerebral traumática y otras enfermedades o trastornos que no muestran una patología amiloide distinta que incluyen, pero sin que la enumeración sea taxativa, esclerosis lateral amiotrófica/complejo parkinsonismo–demencia de Guam, enfermedad neuromotriz no Guam con ovillos neurofibrilares, demencia con gránulos argirofílicos, degeneración corticobasal, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, demencia frontotemporal con parkinsonismo vinculado al cromosoma 17, enfermedad de Hallevorden–Spatz, atrofia de múltiples sistemas, enfermedad de Niemann–Pick, tipo C, degeneración palido–ponto–nigral, enfermedad de Pick, gliosis subcortical progresiva, parálisis supranuclear progresiva, demencia por ovillos neurofibrilares, parkinsonismo postencefálico, distrofia miotónica, método que comprende la administración a una animal, en particular a una mamífero, pero en especial a un ser humano, que sufre de una enfermedad o trastorno como estos, del péptido de unión o una parte funcional de él, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una parte funcional de él, o un polinucleótido o una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores, o una combinación de ellos.

En otra forma de realización (82) de la invención, se provee un método para inducir una respuesta inmune pasiva en un animal, en particular en un mamífero o en un ser humano, que sufre de un trastorno neurodegenerativo como ser una tauopatía mediante la administración a dicho animal o ser humano del péptido de unión o de una parte funcional de él, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una parte funcional de él, o un polinucleótido o una composición farmacéutica, de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores, o una combinación de ellos.

En otra forma de realización más (83) de la invención, se proporciona un método para diagnosticar una enfermedad, trastorno o condición asociados con la proteína tau en un paciente que comprende detectar la unión inmunoespecífica de un péptido de unión o

uno de sus fragmentos activos, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con cualquiera de las formas de realización precedentes, a un epítope de la proteína tau en una muestra o in situ que incluye las etapas de

a. poner en contacto la muestra o una parte del cuerpo específica o área corporal sospechada de contener la proteína tau con un péptido de unión o uno de sus fragmentos, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho péptido de unión o anticuerpo o su fragmento se une con un epítope de la proteína tau;
b. permitir que dicho péptido de unión, en particular dicho anticuerpo, en particular dicho anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, se una con la proteína tau para formar un complejo inmunológico;
c. detectar la formación del complejo inmunológico; y
d. correlacionar la presencia o ausencia del complejo inmunológico con la presencia o ausencia de la proteína tau en la muestra o parte o área específica del cuerpo.

En otra forma de realización más (84) de la invención, se proporciona un método para diagnosticar una predisposición a una enfermedad, trastorno o condición asociado a la proteína tau en un paciente que comprende detectar la unión inmunoespecífica de un péptido de unión o uno de sus fragmentos activos, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con cualquiera de las formas de realización precedentes, a un epítope de la proteína tau en una muestra o in situ, que incluye las etapas de

a. poner en contacto la muestra o una parte corporal o área corporal específicas sospechadas de contener el antígeno tau con un péptido de unión o uno de sus fragmentos activos, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido o su fragmento se une con un epítope de la proteína tau;
b. permitir que dicho péptido de unión, en particular dicho anticuerpo, en particular dicho anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, se una con el antígeno tau para formar un complejo inmunológico;
c. detectar la formación del complejo inmunológico; y
d. correlacionar la presencia o ausencia del complejo inmunológico con la presencia o ausencia de antígeno tau en la muestra o parte o área específica del cuerpo;

e. comparar la cantidad de dicho complejo inmunológico a un valor de control normal; en donde un aumento en la cantidad de dicho agregado en comparación con un valor de control normal indica que dicho paciente padece o está en riesgo de desarrollar una enfermedad o condición asociada a la proteína tau.

En una forma de realización (85) de la invención, se proporciona un método para controlar una enfermedad residual mínima en un paciente después del tratamiento con el péptido de unión o una de sus partes funcionales, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, o un polinucleótido, o una composición farmacéutica, de acuerdo con cualquiera de las formas de realización precedentes, en donde dicho método comprende:

a. poner en contacto la muestra o una parte corporal o área corporal específicas sospechadas de contener el antígeno tau con el péptido de unión o una de sus partes funcionales, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con cualquiera de las formas de realización precedentes, cuyo péptido o su fragmento se une con un epítope de la proteína tau;
b. permitir que dicho péptido de unión, en particular dicho anticuerpo, en particular dicho anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, se una con el antígeno tau para formar un complejo inmunológico;
c. detectar la formación del complejo inmunológico; y
d. correlacionar la presencia o ausencia del complejo inmunológico con la presencia o ausencia de antígeno tau en la muestra o parte o área específica del cuerpo,
e. comparar la cantidad de dicho complejo inmunológico a un valor de control normal, en donde un aumento en la cantidad de dicho agregado en comparación con un valor de control normal indica que dicho paciente todavía padece de una enfermedad residual mínima.

En una forma de realización (86), se proporciona un método para predecir la respuesta de un paciente en tratamiento con el péptido de unión o una de sus partes funcionales, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, o un polinucleótido, o una composición farmacéutica, de acuerdo con cualquiera de las formas de realización precedentes, que comprende

a. poner en contacto la muestra o una parte corporal o área corporal específicas sospechadas de contener el antígeno tau con un péptido de unión o uno de sus fragmentos activos, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales de acuerdo con cualquiera de las

formas de realización precedentes, cuyo péptido o su fragmento se une con un epítope de la proteína tau;

b. permitir que dicho péptido de unión, en particular dicho anticuerpo, en particular dicho anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, se una con el antígeno tau para formar un complejo inmunológico;

c. detectar la formación del complejo inmunológico; y

d. correlacionar la presencia o ausencia del complejo inmunológico con la presencia o ausencia de antígeno tau en la muestra o parte o área específica del cuerpo,

e. comparar la cantidad de dicho complejo inmunológico antes y después del inicio del tratamiento,

en donde una disminución de la cantidad de dicho agregado indica que dicho paciente tiene un alto potencial de responder al tratamiento.

En otra forma de realización (87), la invención se refiere a un kit de ensayo para detección y diagnosis de enfermedades, trastornos o condiciones asociados con la proteína tau que comprende un péptido de unión o uno de sus fragmentos activos, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con cualquiera de las formas de realización precedentes.

En una forma de realización (88), dicho kit de ensayo comprende un recipiente que llevar uno o varios péptidos de unión o sus fragmentos activos, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales, de acuerdo con cualquiera de las formas de realización precedentes e instrucciones de uso de los péptidos de unión o anticuerpos a los fines de unirse con el antígeno tau para formar un complejo inmunológico y detectar la formación del complejo inmunológico de modo que la presencia o la ausencia del complejo inmunológico se correlacione con la presencia o ausencia del antígeno tau.

En otra forma de realización más (89), la presente invención se refiere a un epítope seleccionado del grupo que consiste en Tau aa 15–20 de proteína tau humana mostrada en SEQ ID NO: 67 que comprende Tyr fosforilada en la posición 18 (Y18), Tau aa 405–412 que comprende Ser fosforilada en la posición 409 (pS409), Tau aa 405–411 que comprende Ser fosforilada en la posición 409 (pS409); y Tau aa 208–218 que comprende Thr fosforilada en la posición 212 (pT212) y Ser fosforilada en la posición 214 (pS214).

En una forma de realización (90), dicho epítope consiste en Tau aa 15–20 con Tyr fosforilada en la posición 18 (Y18).

En una forma de realización (91), dicho epítope consiste en Tau aa 405–412 con Ser fosforilada en la posición 409 (pS409).

En una forma de realización (92), dicho epítope consiste en Tau aa 405–411 con Ser fosforilada en la posición 409 (pS409).

En otra forma de realización (93), la invención se refiere a una línea celular que produce un péptido de unión o uno de sus fragmentos activos, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales de acuerdo con cualquiera de las formas de realización precedentes.

En una forma de realización (94), la invención se refiere a una línea celular que es la línea celular de hibridoma 6C10F9C12A11 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3079.

En una forma de realización (95), la invención se refiere a una línea celular que es la línea celular de hibridoma 6C10E5E9C12 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3081.

En una forma de realización (96), la invención se refiere a una línea celular que es la línea celular de hibridoma 6H1A11C11 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3080.

En una forma de realización (97), la invención se refiere a una línea celular que es la línea celular de hibridoma 6H1G6E6 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3088.

En una forma de realización (98), la invención se refiere a una línea celular que es la línea celular de hibridoma 2B6A10C11 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3084.

En una forma de realización (99), la invención se refiere a una línea celular que es la línea celular de hibridoma 2B6G7A12 depositada el 10 de marzo de 2010 como DSM ACC3087.

En una forma de realización (100), la invención se refiere a una línea celular que es la línea celular de hibridoma 3A8A12G7 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3086.

En una forma de realización (101), la invención se refiere a una línea celular que es la línea celular de hibridoma 3A8E12H8 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3085.

En una forma de realización (102), la invención se refiere a una línea celular que es la línea celular de hibridoma 7C2(1)F10C10D3 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3082.

En una forma de realización (103), la invención se refiere a una línea celular que es la línea celular de hibridoma 7C2(2)B9F11D5 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3083.

En una forma de realización (103a), la invención se refiere a una línea celular, que es una línea celular de hibridoma A4–4A6–48 depositada el 30 de agosto de 2011 como DSM ACC3136.

En una forma de realización (103b), la invención se refiere a una línea celular, que es una línea celular de hibridoma A6–2G5–30 depositada el 30 de agosto de 2011 como DSM ACC3137.

En una forma de realización (103c), la invención se refiere a una línea celular, que es una línea celular de hibridoma A6–2G5–41 depositada el 30 de agosto de 2011 como DSM ACC3138.

En una forma de realización (103d), la invención se refiere a una línea celular, que es una línea celular de hibridoma A4–2A1–18 depositada el 30 de agosto de 2011 como DSM ACC3139

En una forma de realización (103e), la invención se refiere a una línea celular, que es una línea celular de hibridoma A4–2A1–40 depositada el 30 de agosto de 2011 como DSM ACC3140.

En una forma de realización (103e), la invención se refiere a una línea celular, que es una línea celular de hibridoma A6–1D2–12 depositada el 6 de septiembre de 2011 como DSM ACC3141.

En una forma de realización (104), la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales que comprende un dominio de cadena liviana (VL) y/o un dominio de cadena pesada (VH), que está codificado por un polinucleótido ubicado en un fragmento de nucleótido que se puede obtener por amplificación de PCR de ADN de línea celular de hibridoma 6C10F9C12A11 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3079 usando

a. un par de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 54 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 51 para la amplificación de un primer dominio de unión; y/o
b. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 53 y SEQ ID NO: 54 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 47 para la amplificación de un segundo dominio de unión.

En una forma de realización (105), la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales que comprende un dominio de cadena liviana (VL) y/o un dominio de cadena pesada (VH), que está codificado por un

polinucleótido ubicado en un fragmento de nucleótido que se puede obtener por amplificación de PCR de ADN de línea celular de hibridoma 6C10E5E9C12 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3081 usando

a. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 48 y SEQ ID NO: 49 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 51 para la amplificación de un primer dominio de unión; y/o
b. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 53 y SEQ ID NO: 54 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 47 para la amplificación de un segundo dominio de unión.

En una forma de realización (106), la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales que comprende un dominio de cadena liviana (VL) y/o un dominio de cadena pesada (VH), que está codificado por un polinucleótido ubicado en un fragmento de nucleótido que se puede obtener por amplificación de PCR de ADN de línea celular de hibridoma 6H1A11C11 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3080 usando

a. un par de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 50 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 51 para la amplificación de un primer dominio de unión; y/o
b. un par de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 46 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 47 para la amplificación de un segundo dominio de unión.

En una forma de realización (107), la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales que comprende un dominio de cadena liviana (VL) y/o un dominio de cadena pesada (VH), que está codificado por un polinucleótido ubicado en un fragmento de nucleótido que se puede obtener por amplificación de PCR de ADN de línea celular de hibridoma 6H1G6E6 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3088 usando

a. un par de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 50 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 51 para la amplificación de un primer dominio de unión; y/o
b. un par de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 46 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 47 para la amplificación de un segundo dominio de unión.

En una forma de realización (108), la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales que comprende un dominio de cadena liviana (VL) y/o un dominio de cadena pesada (VH), que está codificado por un polinucleótido ubicado en un fragmento de nucleótido que se puede obtener por amplificación de PCR de ADN de línea celular de hibridoma 2B6A10C11 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3084 usando

a. un par de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 50 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 51 para la amplificación de un primer dominio de unión; y/o

b. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 46 y SEQ ID NO: 52 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 47 para la amplificación de un segundo dominio de unión.

En una forma de realización (109), la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales que comprende un dominio de cadena liviana (VL) y/o un dominio de cadena pesada (VH), que está codificado por un polinucleótido ubicado en un fragmento de nucleótido que se puede obtener por amplificación de PCR de ADN de línea celular de hibridoma 2B6G7A12 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3087 usando

a. un par de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 50 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 51 para la amplificación de un primer dominio de unión; y/o

b. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 46 y SEQ ID NO: 52 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 47 para la amplificación de un segundo dominio de unión.

En una forma de realización (110), la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales que comprende un dominio de cadena liviana (VL) y/o un dominio de cadena pesada (VH), que está codificado por un polinucleótido ubicado en un fragmento de nucleótido que se puede obtener por amplificación de PCR de ADN de línea celular de hibridoma 3A8A12G7 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3086 usando

a_1. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 48 y SEQ ID NO: 49 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 51 para la amplificación de un primer dominio de unión; o

a_2. un par de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 50 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 51 para la amplificación de un primer dominio de unión; y/o

b. un par de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 46 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 47 para la amplificación de un segundo dominio de unión.

En una forma de realización (111), la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales que comprende un dominio de cadena liviana (VL) y/o un dominio de cadena pesada (VH), que está codificado por un polinucleótido ubicado en un fragmento de nucleótido que se puede obtener por amplificación de PCR de ADN de línea celular de hibridoma 3A8E12H8 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3085 usando

a_1. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 48 y SEQ ID NO: 49 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 51 para la amplificación de un primer dominio de unión; o

a_2. un par de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 50 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 51 para la amplificación de un primer dominio de unión; y/o

b. un par de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 46 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 47 para la amplificación de un segundo dominio de unión.

En una forma de realización (112), la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales que comprende un dominio de cadena liviana (VL) y/o un dominio de cadena pesada (VH), que está codificado por un polinucleótido ubicado en un fragmento de nucleótido que se puede obtener por amplificación de PCR de ADN de línea celular de hibridoma 7C2(1)F10C10D3 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3082 usando

a. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 49; SEQ ID NO: 56 y SEQ ID NO: 57 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 51 para la amplificación de un primer dominio de unión;

b. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 53 y SEQ ID NO: 55 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 47 para la amplificación de un segundo dominio de unión.

En una forma de realización (113), la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales que comprende un dominio de cadena liviana (VL) y/o un dominio de cadena pesada (VH), que está codificado por un polinucleótido ubicado en un fragmento de nucleótido que se puede obtener por amplificación de PCR de ADN de línea celular de hibridoma 7C2(2)B9F11D5 depositada el 25 de agosto de 2010 como DSM ACC3083 usando

a. un par de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 57 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 51 para la amplificación de un primer dominio de unión;

b. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 53 y SEQ ID NO: 55 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 47 para la amplificación de un segundo dominio de unión.

En una forma de realización (114), la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales que comprende un dominio de cadena liviana (VL) y/o un dominio de cadena pesada (VH), que está codificado por un polinucleótido ubicado en un fragmento de nucleótido que se puede obtener por

amplificación de PCR de ADN de línea celular de hibridoma A4–2A1–18 depositada el 30 de agosto de 2011 como DSM ACC3139 usando

a. un par de cebadores que comprende un cebador 5' de SEQ ID NO: 149 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 51 para amplificación de un primer dominio de unión; y/o
b. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 120, 123, 124, 136, 137, 138, 139 y 140 y un cebador 3' seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 131, 134 y 141–148, para amplificación de un segundo dominio de unión.

En una forma de realización (115), la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales que comprende un dominio de cadena liviana (VL) y/o un dominio de cadena pesada (VH), que está codificado por un polinucleótido ubicado en un fragmento de nucleótido que se puede obtener por amplificación de PCR de ADN de línea celular de hibridoma A6–2G5–30 depositada el 30 de agosto de 2011 como DSM ACC3137 usando

a. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 51 y 169–174 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 51, para amplificación de un primer dominio de unión; y/o
b. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 124, 127, y 150–158 y un cebador 3' seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 130, y 159–168, para amplificación de un segundo dominio de unión.

En una forma de realización (116), la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales que comprende un dominio de cadena liviana (VL) y/o un dominio de cadena pesada (VH), que está codificado por un polinucleótido ubicado en un fragmento de nucleótido que se puede obtener por amplificación de PCR de ADN de línea celular de hibridoma A4–2A1–40 depositada el 30 de agosto de 2011 como DSM ACC3140 usando

a. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 178, 179 y 180 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 51, para amplificación de un primer dominio de unión; y/o
b. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 121, 127, 139, 154, 155, y 175 y un cebador 3' seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 128, 129, 147, 176, y 177, para amplificación de un segundo dominio de unión.

En una forma de realización (117), la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales que comprende un dominio de cadena liviana (VL) y/o un dominio de cadena pesada (VH), que está codificado por un polinucleótido ubicado en un fragmento de nucleótido que se puede obtener por amplificación de PCR de ADN de línea celular de hibridoma A6–2G5–41 depositada el 30 de agosto de 2011 como DSM ACC3138 usando

a. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 51 y 188–192 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 51, para amplificación de un primer dominio de unión; y/o
b. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 120, 124, 126, 181, 182 y 183 y un cebador 3' seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 144, 145 y 184–187, para amplificación de un segundo dominio de unión.

En una forma de realización (118), la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales que comprende un dominio de cadena liviana (VL) y/o un dominio de cadena pesada (VH), que está codificado por un polinucleótido ubicado en un fragmento de nucleótido que se puede obtener por amplificación de PCR de ADN de línea celular de hibridoma A4–4A6–48 depositada el 30 de agosto de 2011 como DSM ACC3136 usando

a. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 50 y 201–204 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 51, para amplificación de un primer dominio de unión; y/o
b. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 121, 137, 151 y 193–197 y un cebador 3' seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 131, 141, 144, 166, 198, 199 y 200, para amplificación de un segundo dominio de unión.

En una forma de realización (119), la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal o una de sus partes funcionales que comprende un dominio de cadena liviana (VL) y/o un dominio de cadena pesada (VH), que está codificado por un polinucleótido ubicado en un fragmento de nucleótido que se puede obtener por amplificación de PCR de ADN de línea celular de hibridoma A6–1D2–12 depositada el 6 de septiembre de 2011 como DSM ACC3141 usando

a. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 209–214, y 219–221 y un cebador 3' de SEQ ID NO: 215, para amplificación de un primer dominio de unión; y/o

b. una mezcla de cebadores que comprende un cebador 5' seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 216, 217 y 218 y un cebador 3' de SEQ ID NOs: 208, para amplificación de un segundo dominio de unión.

En una forma de realización (120), el anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización precedentes puede ser un anticuerpo policlonal, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo humano, un anticuerpo de camélido, un diacuerpo, o un anticuerpo modificado o sometido a ingeniería.

En una forma de realización (121), el péptido de unión o su parte funcional puede ser un fragmento que comprende una cadena pesada y/o una cadena liviana, en particular una cadena pesada tal como se indica en SEQ ID NOs: 1–5 y/o una cadena liviana tal como se indica en SEQ ID NOs: 6–11, en particular un fragmento Fab o $F(ab')_2$.

En una forma de realización específica (122), la invención se refiere a una cadena pesada tal como se indica en SEQ ID NOs: 1–5.

En otra forma de realización específica (123), la invención se refiere a una cadena liviana tal como se indica en SEQ ID NOs: 6–11.

En una forma de realización (124), la invención proporciona un método para producir los péptidos de unión o anticuerpos de cualquiera de las formas de realización precedentes, que comprende la etapa de cultivar la línea celular de cualquiera de las formas de realización precedentes en un medio de cultivo apropiado y, opcionalmente, purificar los péptidos de unión o anticuerpo de la línea celular o medio de cultivo.

Breve descripción de las figuras y de las secuencias

FIGURAS

La Figura 1 muestra un anticuerpo unido a una fosfo–tau en partes del cerebro de ratones biGT (tau bigénico) mediante el uso de TAUPIR.

La Figura 2 muestra un anticuerpo unido a una fosfo–tau en partes del cerebro de pacientes con EA y tauopatía mediante el uso de TAUPIR con anticuerpo ACI–36–3A8–Ab1.

La Figura 3 muestra el efecto del tratamiento con anticuerpo anti–tau después de estudio *in vivo* de una (1) semana en epítope pTau aT231 mediante el uso de MSD.

La Figura 4 representa un diagrama que demuestra cómo fueron preparados los cerebros para fracciones de proteína tau solubles e insolubles en sarcosilo (SinT).

La Figura 5 muestra los resultados de la transferencia Western de epítope pTau después de un tratamiento con anticuerpo antiTau en un estudio *in vivo* de un (1) mes (Figuras 5A, 5B 5C, 5G, 5H, 5I) o de tres (3) meses (Figuras 5D, 5E, 5F).

La Figura 6 muestra los resultados de la transferencia Western de epítope pTau después del tratamiento con anticuerpo antiTau para un estudio *in vivo* de tres (3) meses mediante el uso de ratones bigénicos biGT.

La Figura 7 muestra IHC después del tratamiento con anticuerpo antiTau con ACI–36–2B6–Ab1 en un estudio *in vivo* de tres (3) meses.

La Figura 8 muestra IHC después del tratamiento con anticuerpo antiTau con ACI–36–3A8–Ab1 en un estudio *in vivo* de tres (3) meses.

La Figura 9 muestra los resultados del test de Morris Water–Maze después del tratamiento con anticuerpo antiTau con ACI–36–2B6–Ab1 en un estudio *in vivo* de tres (3) meses.

La Figura 10 muestra los resultados del test de Morris Water–Maze después del tratamiento con anticuerpo antiTau con ACI–36–3A8–Ab1 en un estudio *in vivo* de tres (3) meses.

SECUENCIAS

SEQ ID NO: 1 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–36–3A8–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma 3A8A12G7.

SEQ ID NO: 2 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–36–2B6–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma 2B6A10C11.

SEQ ID NO: 3 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–36–6H1–Ab1 y ACI–36–6H1–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 6H1A11C11 y 6H1G6E6, respectivamente.

SEQ ID NO: 4 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–33–6C10–Ab2 y ACI–33–6C10–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma 6C10E5E9C12 y 6C10F9C12A11, respectivamente.

SEQ ID NO: 5 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–41–7C2–Ab1 y ACI–41–7C2–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 7C2(1)F10C10D3 y 7C2(2)B9F11D5, respectivamente.

SEQ ID NO: 6 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–36–3A8–Ab1$_{VK-AD}$ y ACI–36–3A8–Ab2$_{VK-AD}$ producido por la línea celular de hibridoma 3A8A12G7 y 3A8E12H8, respectivamente.

SEQ ID NO: 7 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–36–3A8–Ab1$_{VK-G}$ y ACI–36–3A8–Ab2$_{VK-G}$ producido por la línea celular de hibridoma 3A8A12G7 y 3A8E12H8, respectivamente.

SEQ ID NO: 8 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–36–2B6–Ab1 y ACI–36–2B6–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 2B6A10C11 y 2B6G7A12, respectivamente.

SEQ ID NO: 9 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–36–6H1–Ab1 y ACI–36–6H1–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 6H1A11C11 y 6H1G6E6, respectivamente.

SEQ ID NO: 10 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–33–6C10–Ab2 y ACI–33–6C10–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma 6C10E5E9C12 y 6C10F9C12A11, respectivamente.

SEQ ID NO: 11 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–41–7C2–Ab1 y ACI–41–7C2–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 7C2(1)F10C10D3 y 7C2(2)B9F11D5, respectivamente.

SEQ ID NO: 12 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–36–3A8–Ab1, ACI–36–3A8–Ab2, ACI–36–2B6–Ab1, ACI–36–2B6–Ab2, ACI–36–6H1–Ab1 y ACI–36–6H1–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 3A8A12G7, 3A8E12H8, 2B6A10C11, 2B6G7A12, 6H1A11C11 y 6H1G6E6, respectivamente.

SEQ ID NO: 13 representa la secuencia de aminoácidos del CDR2 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–36–3A8–Ab1, ACI–36–3A8–Ab2, ACI–36–2B6–Ab1, ACI–36–2B6–Ab2, ACI–36–6H1–Ab1 y ACI–36–6H1–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 3A8A12G7, 3A8E12H8, 2B6A10C11, 2B6G7A12, 6H1A11C11 y 6H1G6E6, respectivamente.

SEQ ID NO: 14 representa la secuencia de aminoácidos del CDR3 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–36–3A8–Ab1, ACI–36–3A8–Ab2, ACI–36–2B6–Ab1, ACI–36–2B6–Ab2, ACI–36–6H1–Ab1 y ACI–36–6H1–Ab2

producido por la línea celular de hibridoma 3A8A12G7, 3A8E12H8, 2B6A10C11, 2B6G7A12, 6H1A11C11 y 6H1G6E6, respectivamente.

SEQ ID NO: 15 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–33–6C10–Ab2 y ACI–33–6C10–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma 6C10E5E9C12 y 6C10F9C12A11, respectivamente.

SEQ ID NO: 16 representa la secuencia de aminoácidos del CDR2 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–33–6C10–Ab2 y ACI–33–6C10–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma 6C10E5E9C12 y 6C10F9C12A11, respectivamente.

SEQ ID NO: 17 representa la secuencia de aminoácidos del CDR3 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–33–6C10–Ab2 y ACI–33–6C10–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma 6C10E5E9C12 y 6C10F9C12A11, respectivamente.

SEQ ID NO: 18 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–41–7C2–Ab1 y ACI–41–7C2–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 7C2(1)F10C10D3 y 7C2(2)B9F11D5, respectivamente.

SEQ ID NO: 19 representa la secuencia de aminoácidos del CDR2 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–41–7C2–Ab1 y ACI–41–7C2–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 7C2(1)F10C10D3 y 7C2(2)B9F11D5, respectivamente.

SEQ ID NO: 20 representa la secuencia de aminoácidos del CDR3 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–41–7C2–Ab1 y ACI–41–7C2–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 7C2(1)F10C10D3 y 7C2(2)B9F11D5, respectivamente.

SEQ ID NO: 21 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–36–3A8–Ab1$_{VK-AD}$ y ACI–36–3A8–Ab2$_{VK-AD}$ producido por la línea celular de hibridoma 3A8A12G7 y 3A8E12H8, respectivamente.

SEQ ID NO: 22 representa la secuencia de aminoácidos del CDR2 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–36–3A8–Ab1$_{VK-AD}$ y ACI–36–3A8–Ab2$_{VK-AD}$ producido por la línea celular de hibridoma 3A8A12G7 y 3A8E12H8, respectivamente.

SEQ ID NO: 23 representa la secuencia de aminoácidos del CDR3 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI-36-3A8-Ab1$_{VK-AD}$ y ACI-36-3A8-Ab2$_{VK-AD}$ producido por la línea celular de hibridoma 3A8A12G7 y 3A8E12H8, respectivamente.

SEQ ID NO: 24 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI-36-3A8-Ab1$_{VK-G}$ y ACI-36-3A8-Ab2$_{VK-G}$ producido por la línea celular de hibridoma 3A8A12G7 y 3A8E12H8, respectivamente.

SEQ ID NO: 25 representa la secuencia de aminoácidos del CDR2 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI-36-3A8-Ab1$_{VK-G}$, ACI-36-3A8-Ab2$_{VK-G}$, ACI-36-2B6-Ab1, ACI-36-2B6-Ab2, ACI-36-6H1-Ab1 y ACI-36-6H1-Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 3A8A12G7, 3A8E12H8, 2B6A10C11, 2B6G7A12, 6H1A11C11 y 6H1G6E6, respectivamente.

SEQ ID NO: 26 representa la secuencia de aminoácidos del CDR3 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI-36-3A8-Ab1$_{VK-G}$, ACI-36-3A8-Ab2$_{VK-G}$, ACI-36-2B6-Ab1, ACI-36-2B6-Ab2, ACI-36-6H1-Ab1 y ACI-36-6H1-Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 3A8A12G7, 3A8E12H8, 2B6A10C11, 2B6G7A12, 6H1A11C11 y 6H1G6E6, respectivamente.

SEQ ID NO: 27 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI-36-2B6-Ab1 y ACI-36-2B6-Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 2B6A10C11 y 2B6G7A12, respectivamente.

SEQ ID NO: 28 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI-36-6H1-Ab1 y ACI-36-6H1-Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 6H1A11C11 y 6H1G6E6, respectivamente.

SEQ ID NO: 29 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI-33-6C10-Ab2 y ACI-33-6C10-Ab1 producido por la línea celular de hibridoma 6C10E5E9C12 y 6C10F9C12A11, respectivamente.

SEQ ID NO: 30 representa la secuencia de amincácidos del CDR2 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI-33-6C10-Ab2 y ACI-33-6C10-Ab1 producido por la línea celular de hibridoma 6C10E5E9C12 y 6C10F9C12A11, respectivamente.

SEQ ID NO: 31 representa la secuencia de aminoácidos del CDR3 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–33–6C10–Ab2 y ACI–33–6C10–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma 6C10E5E9C12 y 6C10F9C12A11, respectivamente.

SEQ ID NO: 32 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–41–7C2–Ab1 y ACI–41–7C2–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 7C2(1)F10C10D3 y 7C2(2)B9F11D5, respectivamente.

SEQ ID NO: 33 representa la secuencia de aminoácidos del CDR2 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–41–7C2–Ab1 y ACI–41–7C2–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 7C2(1)F10C10D3 y 7C2(2)B9F11D5, respectivamente.

SEQ ID NO: 34 representa la secuencia de aminoácidos del CDR3 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–41–7C2–Ab1 y ACI–41–7C2–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 7C2(1)F10C10D3 y 7C2(2)B9F11D5, respectivamente.

SEQ ID NO: 35 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–36–3A8–Ab1 y ACI–36–3A8–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 3A8A12G7 y 3A8E12H8, respectivamente.

SEQ ID NO: 36 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–36–2B6–Ab1 y ACI–36–2B6–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 2B6A10C11 y 2B6G7A12, respectivamente.

SEQ ID NO: 37 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–36–6H1–Ab1 y ACI–36–6H1–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 6H1A11C11 y 6H1G6E6, respectivamente.

SEQ ID NO: 38 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–33–6C10–Ab2 y ACI–33–6C10–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma 6C10E5E9C12 y 6C10F9C12A11, respectivamente.

SEQ ID NO: 39 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–41–7C2–Ab1 y ACI–41–7C2–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 7C2(1)F10C10D3 y 7C2(2)B9F11D5, respectivamente.

SEQ ID NO: 40 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–36–3A8–Ab1 y ACI–36–3A8–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 3A8A12G7 y 3A8E12H8, respectivamente.

SEQ ID NO: 41 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–36–3A8–Ab1 y ACI–36–3A8–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 3A8A12G7 y 3A8E12H8, respectivamente.

SEQ ID NO: 42 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–36–2B6–Ab1 y ACI–36–2B6–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 2B6A10C11 y 2B6G7A12, respectivamente.

SEQ ID NO: 43 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–36–6H1–Ab1 y ACI–36–6H1–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 6H1A11C11 y 6H1G6E6, respectivamente.

SEQ ID NO: 44 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–33–6C10–Ab2 y ACI–33–6C10–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma 6C10E5E9C12 y 6C10F9C12A11, respectivamente.

SEQ ID NO: 45 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–41–7C2–Ab1 y ACI–41–7C2–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma 7C2(1)F10C10D3 y 7C2(2)B9F11D5, respectivamente.

SEQ ID NO: 46 – 57 representa secuencias de nucleótidos de cebadores delanteros e inversos VH/VK

SEQ ID NO: 58 representa la secuencia de aminoácidos de Tau 379–408 [pS396, pS404]

SEQ ID NO: 59 representa la secuencia de aminoácidos de Tau 5–20 [pY18]

SEQ ID NO: 60 representa la secuencia de aminoácidos de Tau 206–221 [pT212, pS214]

SEQ ID NO: 61 representa la secuencia de aminoácidos de Tau 196–211 [pS202, pT205]

SEQ ID NO: 62 representa la secuencia de aminoácidos de Tau 393–408 [pS396, pS404]

SEQ ID NO: 63 representa la secuencia de aminoácidos de Tau 401–418 [pS404, pS409]

SEQ ID NO: 64 representa la secuencia de aminoácidos de Tau 200–216 [pS202+ pT205 & pT212+pS214]

SEQ ID NO: 65 representa la secuencia de aminoácidos de Tau 407–418 [pS409]

SEQ ID NO: 66 representa la secuencia de aminoácidos de Tau 399–408 [pS404]

SEQ ID NO: 67 representa la secuencia de aminoácidos de la isoforma más larga de Tau humana (441aa), también denominada Tau40

SEQ ID NO: 68 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–4A6–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma A4–4A6–18.

SEQ ID NO: 69 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–4A6–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma A4–4A6–18.

SEQ ID NO: 70 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–4A6–Ab1

SEQ ID NO: 71 representa la secuencia de aminoácidos del CDR2 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–4A6–Ab1

SEQ ID NO: 72 representa la secuencia de aminoácidos del CDR3 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–4A6–Ab1

SEQ ID NO: 73 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–4A6–Ab1

SEQ ID NO: 74 representa la secuencia de aminoácidos del CDR2 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–4A6–Ab1

SEQ ID NO: 75 representa la secuencia de aminoácidos del CDR3 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–4A6–Ab1

SEQ ID NO: 76 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–1D2–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma A6–1D2–12.

SEQ ID NO: 77 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–1D2–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma A6–1D2–12.

SEQ ID NO: 78 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–1D2–Ab1.

SEQ ID NO: 79 representa la secuencia de aminoácidos del CDR2 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–1D2–Ab1.

SEQ ID NO: 80 representa la secuencia de aminoácidos del CDR3 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–1D2–Ab1

SEQ ID NO: 81 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–1D2–Ab1

SEQ ID NO: 82 representa la secuencia de aminoácidos del CDR2 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–1D2–Ab1

SEQ ID NO: 83 representa la secuencia de aminoácidos del CDR3 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–1D2–Ab1

SEQ ID NO: 84 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–4A6–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma A4–4A6–18.

SEQ ID NO: 85 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–4A6–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma A4–4A6–18.

SEQ ID NO: 86 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–1D2–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma A6–1D2–12.

SEQ ID NO: 87 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–1D2–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma A6–1D2–12.

SEQ ID NO: 88 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2A1–Ab1, ACI–35–2A1–Ab2, y ACI–35–4A6–Ab2, respectivamente, producido por la línea celular de hibridoma A4–2A1–18, A4–2A1–40 y A4–4A6–48, respectivamente.

SEQ ID NO: 89 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2A1–Ab1, ACI–35–2A1–Ab2, ACI–35–4A6–Ab2, ACI–35–2G5–AB2 y ACI–35–2G5–AB3, respectivamente.

SEQ ID NO: 90 representa la secuencia de aminoácidos del CDR2 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2A1–Ab1, ACI–35–2A1–Ab2, y ACI–35–4A6–Ab2, respectivamente.

SEQ ID NO: 91 representa la secuencia de aminoácidos del CDR3 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2A1–Ab1, ACI–35–2A1–Ab2, ACI–35–4A6–Ab2, ACI–35–2G5–AB2 y ACI–35–2G5–AB3, respectivamente.

SEQ ID NO: 92 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2A1–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma A4–2A1–40

SEQ ID NO: 93 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2A1–Ab2.

SEQ ID NO: 94 representa la secuencia de aminoácidos del CDR2 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2A1–Ab2.

SEQ ID NO: 95 representa la secuencia de aminoácidos del CDR3 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2A1–Ab2.

SEQ ID NO: 96 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma A6–2G5–08.

SEQ ID NO: 97 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma A6–2G5–08.

SEQ ID NO: 98 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–Ab1.

SEQ ID NO: 99 representa la secuencia de aminoácidos del CDR2 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–Ab1.

SEQ ID NO: 100 representa la secuencia de aminoácidos del CDR3 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–Ab1.

SEQ ID NO: 101 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–Ab1.

SEQ ID NO: 102 representa la secuencia de aminoácidos del CDR2 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–Ab1.

SEQ ID NO: 103 representa la secuencia de aminoácidos del CDR3 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–Ab1.

SEQ ID NO: 104 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–AB2 y ACI–35–2G5–AB3, respectivamente, producido por la línea celular de hibridoma A6–2G5–30 y A6–2G5–41, respectivamente.

SEQ ID NO: 105 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–AB2 y ACI–35–2G5–AB3, respectivamente, producido por la línea celular de hibridoma A6–2G5–30 y A6–2G5–41, respectivamente.

SEQ ID NO: 106 representa la secuencia de aminoácidos del CDR1 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–AB2 y ACI–35–2G5–AB3, respectivamente.

SEQ ID NO: 107 representa la secuencia de aminoácidos del CDR2 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–AB2 y ACI–35–2G5–AB3, respectivamente.

SEQ ID NO: 108 representa la secuencia de aminoácidos del CDR3 de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–AB2 y ACI–35–2G5–AB3, respectivamente.

SEQ ID NO: 109 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2A1–Ab1, ACI–35–2A1–Ab2, y ACI–35–4A6–Ab2, respectivamente, producido por la línea celular de hibridoma A4–2A1–18, A4–2A1–40 y A4–4A6–48, respectivamente.

SEQ ID NO: 110 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2A1–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma A4–2A1–40.

SEQ ID NO: 111 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–AB1 producido por la línea celular de hibridoma A6–2G5–08.

SEQ ID NO: 112 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–AB1 producido por la línea celular de hibridoma A6–2G5–08.

SEQ ID NO: 113 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–AB2 y ACI–35–2G5–AB3, respectivamente, producido por la línea celular de hibridoma A6–2G5–30 y A6–2G5–41, respectivamente.

SEQ ID NO: 114 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–AB2 y ACI–35–2G5–AB3, respectivamente, producido por la línea celular de hibridoma A6–2G5–30 y A6–2G5–41, respectivamente.

SEQ ID NO: 115 representa la secuencia de aminoácidos del CDR2 de la región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2G5–AB2 y ACI–35–2G5–AB3.

SEQ ID NO: 116 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2A1–Ab1producido por la línea celular de hibridoma A4–2A1–18.

SEQ ID NO: 117 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–2A1–Ab1 producido por la línea celular de hibridoma A4–2A1–18.

SEQ ID NO: 118 representa la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–4A6–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma A4–4A6–48.

SEQ ID NO: 119 representa la secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena liviana (VK) de anticuerpo monoclonal ACI–35–4A6–Ab2 producido por la línea celular de hibridoma A4–4A6–48.

SEQ ID NO: 120 – 121 representa secuencias de nucleótidos de cebadores delanteros e inversos VH/VK.

Definiciones de los términos

Los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína", de la forma empleada en la presente, son indistintos y son definidos de manera que hagan referencia a una biomolécula compuesta por aminoácidos unidos por una unión de péptido.

Los términos "péptidos" o "péptido de unión" son utilizados en la presente en forma indistinta y hacen referencia a cadenas de aminoácidos (típicamente L–aminoácidos) cuyos carbonos alfa están unidos a través de uniones de péptido formadas por una reacción de condensación entre el grupo carboxilo del carbono alfa de un aminoácido y el grupo amino del carbono alfa de otro aminoácido. El aminoácido terminal en un extremo de la cadena (es decir, la terminal de amino) tiene un grupo amino libre, mientras que el aminoácido terminal en el otro extremo de la cadena (es decir, la terminal de carboxilo) tiene un grupo carboxilo libre. Como tal, el término "amino terminal" (que se abrevia N–terminal) hace referencia al grupo amino alfa libre sobre el aminoácido en la terminal de amino del péptido, o al grupo amino alfa (grupo imino cuando participa en una unión de péptido) de un aminoácido en cualquier otro lugar dentro del péptido. De forma similar, el término "carboxilo terminal" (que se abrevia C–terminal) hace referencia al grupo carboxilo libre sobre el aminoácido en la terminal de carboxilo de un péptido, o al grupo carboxilo de un aminoácido en cualquier otro lugar dentro del péptido. Un péptido de unión constituye anticuerpos tales como anticuerpos policionales o monoclonales, anticuerpos humanos o humanizados, diacuerpos, anticuerpos de camélidos, etc, o partes funcionales de él de acuerdo con lo definido en la presente.

Los términos "fragmento de él", "su fragmento" o "fragmento" de la forma utilizada en la presente, hacen referencia a un fragmento del péptido funcional que tiene

esencialmente la misma actividad (biológica) que los péptidos definidos en la presente (por ejemplo, de acuerdo con lo mostrado en las SEQ ID NOs 59–66 en la tabla 1, respectivamente), es decir que dichos fragmentos aún son capaces de suscitar una respuesta inmune muy específica, en particular específica respecto de su conformación, en un organismo, pero en particular dentro de un animal, en particular de un mamífero o de un ser humano, que es muy efectiva y capaz de evitar o mitigar tauopatías o los síntomas asociados con tauopatías. En particular, dichos fragmentos aún contienen el o los fosfoepítopes patológicos específicos del péptido tau, de acuerdo con lo utilizado y definido en la presente.

Típicamente, los aminoácidos que conforman un péptido están numerados en orden, comenzando en la terminal de amino y aumentando en la dirección a la terminal de carboxilo del péptido. De esta manera, cuando se dice que un aminoácido "sigue" a otro, ese aminoácido está ubicado más cerca de la terminal de carboxilo del péptido que del aminoácido precedente.

El término "residuo" es utilizado en la presente para hacer referencia a un aminoácido que es incorporado en un péptido por una unión de amida. Como tal, el aminoácido puede presentarse en forma natural como aminoácido o, a menos que se lo limite de otra forma, puede abarcar análogos conocidos de aminoácidos naturales que funcionan de una forma similar a los aminoácidos que se presentan en forma natural (es decir, los miméticos de aminoácidos). Además, un mimético de unión de amida incluye modificaciones estructurales de péptido, que resultan conocidos para los expertos en el arte.

La expresión "que esencialmente consiste/n en" es empleada en la presente de manera que quede excluido cualquier elemento que sustancialmente altere las propiedades esenciales de los péptidos a los que hace referencia la frase. De esta manera, la descripción de un péptido "que esencialmente consiste en..." excluye cualquier sustitución, agregado o eliminación de aminoácido que sustancialmente altere la actividad biológica de ese péptido.

Además, el experto en el arte sabrá reconocer que, de acuerdo con lo mencionado con anterioridad, cada sustitución, eliminación o agregado que altere, agregue o elimine un solo aminoácido o un pequeño porcentaje de aminoácidos (típicamente menos del 5%, más típicamente menos del 1%) en una secuencia codificada, es una variante modificada en forma conservadora donde las alteraciones dan como resultado la sustitución de un aminoácido con un aminoácido similar desde el punto de vista químico. Las tablas de sustitución conservadoras que proveen aminoácidos

similares en cuanto a su función resultan bien conocidas en el arte. Los siguientes seis grupos contienen, cada uno de ellos, aminoácidos que son sustituciones conservadoras entre sí:

1) alanina (A), serina (S), treonina (T);

2) ácido aspártico (D), ácido glutámico (E);

3) asparagina (N), glutamina (Q);

4) arginina (R), lisina (K);

5) isoleucina (I), leucina (L), metionina (M), valina (V); y

6) fenilalanina (F); tirosina (Y), triptófano (W).

Las expresiones "aislado" o "biológicamente puro" hacen referencia al material que es sustancial o esencialmente libre de componentes que por lo general lo acompañan de la forma que se encuentra en su estado original. De esta manera, los péptidos descriptos en la presente no contienen materiales que en forma normal estén asociados con su entorno *in situ*. En general, los péptidos inmunogénicos aislados descriptos en la presente son puros en al menos alrededor el 80%, de forma usual al menos alrededor el 90%, y de preferencia, al menos alrededor el 95% de acuerdo con lo medido por intensidad de banda en un gel de tinción con plata.

La pureza o la homogeneidad de la proteína pueden ser indicadas por una cantidad de métodos conocidos en el arte, como ser electroforesis en gel de poliacrilamida de una muestra de proteína, seguido de visualización de tinción. Para ciertos propósitos, será necesaria una alta resolución y HPLC o medios similares para purificación.

Cuando los péptidos inmunogénicos presentan una longitud relativamente corta (es decir, menor que alrededor de 50 aminoácidos), con frecuencia son sintetizados mediante el uso de técnicas químicas de síntesis de péptidos estándar.

La síntesis de fase sólida donde el aminoácido de C–terminal de la secuencia está unido a un soporte insoluble seguido del agregado secuencial de los aminoácidos restantes en la secuencia es un método preferido para la síntesis química de los péptidos inmunogénicos descriptos en la presente. Las técnicas para síntesis de fase sólida resultan conocidas para los expertos en el arte.

En forma alternativa, los péptidos inmunogénicos descriptos en la presente son sintetizados mediante el uso de metodología de ácido nucleico recombinante. En general, esto implica la creación de una secuencia de ácido nucleico que codifica el péptido, coloca el ácido nucleico en un casete de expresión bajo el control de un promotor de péptido, expresa el péptido en un huésped, aísla el péptido o polipéptido expresado y, de

requerirse, renaturaliza el péptido. En la literatura se encuentran técnicas suficientes para guiar al experto en el arte a través de dichos procedimientos.

Una vez que los péptidos recombinantes expresados pueden ser purificados de acuerdo con los procedimientos estándar, que incluyen precipitación de sulfato de amonio, columnas de afinidad, cromatografía en columna, electroforesis en gel y similares. Las composiciones sustancialmente puras con una homogeneidad de alrededor del 50% al 85% resultan de preferencia, y con una homogeneidad de entre 80% y 95% o más resultan de mayor preferencia para ser utilizadas como agentes terapéuticos.

El experto en el arte reconocerá que, después de la síntesis química, la expresión biológica o la purificación, los péptidos inmunogénicos pueden poseer una conformación sustancialmente diferente de las conformaciones originales de los péptidos constituyentes. En este caso, con frecuencia es necesario desnaturalizar y reducir el péptido antiproliferativo y luego hacer que el péptido se repliegue en la conformación preferida. Los métodos para reducir y desnaturalizar proteínas e inducir el repliegue resultan conocidos para los expertos en el arte.

La antigenicidad de la proteína purificada puede ser confirmada, por ejemplo, mediante la demostración de la reacción con suero inmune o bien, con antisueros producidos contra la proteína propiamente dicha.

Los términos "un" y "el" con sus respectivos femeninos de la forma utilizada en la presente son definidos de manera que signifiquen "uno o más" e incluyen los plurales a menos que el contexto resulte inapropiado.

Los términos "detectar" o "detectado" de la forma utilizada en la presente significan el uso de técnicas conocidas para detectar moléculas biológicas como ser métodos inmunoquímicos o histológicos y hacer referencia a la determinación cuantitativa o cualitativa de la presencia o concentración de la biomolécula en investigación.

El término "aislada" significa una molécula biológica libre de al menos algunos de los componentes en los que se presenta en forma natural.

Los términos "anticuerpo", "anticuerpos" o "partes funcionales de él", de la forma empleada en la presente, consisten en un término reconocido en el arte y hacen referencia a moléculas o fragmentos activos de moléculas que se unen a antígenos conocidos, en particular a moléculas de inmunoglobulina y a porciones activas desde el punto de vista inmunológico de moléculas de inmunoglobulina, es decir, moléculas que contienen un sitio de unión que se une a un antígeno en forma inmunoespecífica. La inmunoglobulina de acuerdo con la invención puede ser de cualquier tipo (IgG, IgM, IgD,

IgE, IgA y IgY) o clase (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 y IgA2) o subclase de molécula de inmunoglobulina.

Dentro del alcance de la presente invención, el término "anticuerpos" pretende incluir anticuerpos monoclonales, policlonales, quiméricos, de cadena simple, biespecíficos, simionizados, anticuerpos humanos y humanizados, anticuerpos de camélido, diacuerpos, así como también partes funcionales o fragmentos activos de ellos. Entre los ejemplos de fragmentos activos de moléculas que se unen a antígenos conocidos se incluyen fragmentos de Fab y $F(ab')_2$, incluyendo los productos de una biblioteca de expresión de inmunoglobulina Fab y fragmentos que unen epítopes de cualquiera de los anticuerpos y fragmentos arriba mencionados.

Estos fragmentos activos pueden derivar de un anticuerpo de la presente invención mediante una cantidad de técnicas. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales purificados pueden ser segmentados con una enzima, como ser la pepsina, y ser sometidos a HPLC de filtración en gel. La fracción apropiada que contiene fragmentos Fab puede luego ser recolectada y concentrada por filtración de membrana y similares. Para una descripción adicional de técnicas generales para el aislamiento de fragmentos activos de anticuerpos, referirse, por ejemplo, a Khaw, B. A. et al. J. Nucl. Med. 23:1011–1019 (1982); Rousseaux et al. *Methods Enzymology*, 121:663–69, Academic Press, (1986).

La expresión "anticuerpo humanizado" hace referencia un tipo de anticuerpo modificado donde sus CDRs derivan de una inmunoglobulina dadora no humana, y las partes derivadas de inmunoglobulina restantes de la molécula derivan de una (o más) inmunoglobulina(s) humanas.

Un anticuerpo humanizado puede hacer referencia, además, a un anticuerpo con una región variable donde una o más de sus regiones estructurales cuentan con aminoácidos humanos o de primates. Además, los residuos del soporte estructural pueden ser modificados para conservar la afinidad de la unión. Los métodos para obtener "anticuerpos humanizados" resultan conocidos para los expertos en el arte (referirse, por ejemplo, a Queen et al, Proc. Natl Acad SciEE.UU, 86:10029–10032 (1989), Hodgson et al., *Bio/Technolcy*, 9:421 (1991)).

Asimismo, puede obtenerse un "anticuerpo humanizado" a través de un nuevo enfoque de modificación genética que permita la producción de anticuerpos policlonales tipo humano de afinidad madura en animales grandes como ser, por ejemplo, conejos (http://www.rctech.com/bioventures/therapeutic.php).

La expresión "anticuerpo completamente humano" o anticuerpo "humano" hace referencia a un anticuerpo derivado de ratones transgénicos que llevan genes de anticuerpo humano o de células humanas. No obstante, para el sistema inmune humano, la diferencia entre anticuerpos "completamente humano", "humano" y "humanizados" puede ser insignificante o inexistente y como tal, las tres expresiones pueden ser de igual eficacia o seguridad.

La expresión "anticuerpo monoclonal" también es reconocida en el arte y hace referencia a un anticuerpo que se produce en masa en el laboratorio a partir de un solo clon y que reconoce un solo antígeno. Los anticuerpos monoclonales son producidos, típicamente, mediante la fusión de una célula B productora de anticuerpos, por lo general de corta vida, en una célula de rápido crecimiento, como ser una célula de cáncer (a veces mencionada como una célula "inmortal"). La célula híbrida resultante, o hibridoma, se multiplica con rapidez y crea un clon que produce grandes cantidades del anticuerpo.

El término "antígeno" hace referencia a una entidad o fragmento de él que puede inducir una repuesta inmune en un organismo, en particular de un animal, de forma más particular de un mamífero, incluso un ser humano. El término incluye inmunogenes y regiones responsables de la antigenicidad o de los determinantes antigénicos.

De la forma empleada en la presente, el término "soluble" significa disuelto en forma parcial o total en una solución acuosa.

Asimismo, de la forma empleada en la presente, el término "inmunogénico" hace referencia a sustancias que suscitan o mejoran la producción de anticuerpos, células T y otras células inmunes reactivas dirigidas contra un agente inmunogénico y contribuyen a una respuesta inmune en seres humanos o en animales.

Una respuesta inmune se presenta cuando un individuo produce suficientes anticuerpos, células T y otras células inmunes reactivas contra composiciones inmunogénicas administradas de la presente invención para moderar o mitigar el trastorno a ser tratado.

El término "hibridoma" es reconocido en el arte y los expertos en el arte entienden que hace referencia a una célula producida por la fusión de una célula que produce anticuerpos y una célula inmortal, por ejemplo, una célula de mieloma múltiple. Esta célula híbrida es capaz de producir un suministro continuo de anticuerpos. Referirse a la definición de "anticuerpo monoclonal" anterior y a los Ejemplos que aparecen más abajo para una descripción detallada del método de fusión.

El término "portador", de la forma utilizada en la presente, significa una estructura a la que puede incorporarse un péptido antigénico o constructo supramolecular o puede

estar asociado, lo cual presenta o expone péptidos antigénicos o parte del péptido al sistema inmune de un ser humano o de un animal. Cualquier partícula que pueda ser utilizada en forma adecuada en terapia animal o humana como ser, por ejemplo, una vesícula, una partícula o un cuerpo particulado puede ser empleada como portador dentro del contexto de la presente invención.

El término "portador" comprende, además, métodos de administración donde las composiciones de constructo antigénico supramolecular que comprenden el péptido antigénico pueden ser transportadas a sitios convenientes mediante mecanismos de administración. Un ejemplo de un sistema de administración como este utiliza metales coloidales como ser oro coloidal.

Entre las proteínas portadoras pueden ser empleadas en las composiciones de constructo antigénico supramolecular de la presente invención se incluyen, pero sin que la enumeración sea taxativa, el péptido de unión de maltosa "MBP", albúmina de suero bovino "BSA", hemocianina de lapa "KLH", ovoalbúmina, flagelina, tiroglobulina, albúmina de suero de cualquier especie, gamaglobulina de cualquier especie, células singeneicas que transportan antígenos la y polímeros de aminoácidos D y/o L.

Además, la expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" o "cantidad farmacéuticamente efectiva" hacen referencia a la cantidad de péptido de unión que, cuando es administrada a un ser humano o a un animal, es suficiente como para que de como resultado un efecto terapéutico en dicho ser humano o animal. La cantidad efectiva es fácilmente determinada por los expertos en el arte que sigan los procedimientos de rutina.

Las expresiones "pTau PHF", "PHF" y "filamentos helicoidales pareados" son empleadas en la presente como sinónimas y hacen referencia a pares de filamentos de alredor de 10 nm enrollados en hélices con una periodicidad de 160 nm visible en microscopio de electrones. El ancho varía entre 10 y 22 nm. Los PHF son estructuras predominantes en los ovillos neurofibrilares de la enfermedad de Alzheimer (EA) y en hilos de neurópilo. Los PHF también pueden verse en algunos, pero no en todos, neuritas distróficas asociadas con placas neuríticas. El componente principal de los PHF es una forma hiperfosforilada de proteína tau asociada a microtúbulos. Los PHF están compuestos por proteínas tau hiperfosforiladas antiparalelas unidas a disulfuro. Tau PHF puede ser separado de sus 20 residuos de aminoácidos de C–terminal. Los mecanismos subyacentes de la formación de PHF son inciertos pero la hiperfosforilación de tau puede desengancharla de los microtúbulos, lo que aumenta el grupo soluble de tau.

Dentro del alcance de la presente invención, se ha demostrado que la respuesta inducida por el anticuerpo a la composición antigénica de acuerdo con la invención es ampliamente independiente de la célula T. Se utilizó un modelo de ratón desnudo en esta cuestión y se vacunaron ratones desnudos; se midieron las respuestas del anticuerpo para evaluar la respuesta del anticuerpo específico de Aβ inducida por la composición antigénica de acuerdo con la invención en los ratones desnudos inmunizados. Los ratones desnudos llevan la mutación Foxn1nu y como consecuencia, presentan una función reducida de célula T debido a la falta de un timo adecuado.

La expresión "cantidad farmacéuticamente efectiva", de la forma empleada en la presente, hace referencia a una dosis de un ingrediente activo en una composición farmacéutica adecuada para la cura, o al menos para la detención parcial de los síntomas de la enfermedad, trastorno o estado a ser tratado o cualquier complicación asociada con ellos.

La presente invención provee péptidos de unión que reconocen y se unen a fosfoepítopes patológicos de la proteína tau. En particular, la presente invención provee anticuerpos específicos contra fosfoepítopes lineales y conformacionales, simples y complejos, en proteína tau que son considerados responsables de la sinaptotoxicidad y neurotoxicidad en tauopatías, incluso en EA.

En consecuencia, la presente invención hace referencia en una forma de realización a un péptido de unión o una parte funcional de él, en particular a un anticuerpo, en particular a un anticuerpo monoclonal o una parte funcional de él, cuyo péptido de unión o anticuerpo reconoce y se une específicamente a un fosfoepítope en un mamífero, en particular a la proteína tau de un ser humano o a un fragmento de ella, en particular a un confórmero de proteína tau patológica, pero, en una forma de realización, no se une al epítope no fosforilado correspondiente y/o a epítopes no relacionados, donde dicho péptido de unión o anticuerpo tiene una alta afinidad de unión con una constante disociación de la menos 10 nM, en particular de al menos 8 nM, en particular de al menos 5 nM, en particular de al menos 2 nM, en particular de al menos 1 nM, en particular de al menos 500 pM, en particular de al menos 400 pM, en particular de al menos 300 pM, en particular de al menos 200 pM, en particular de al menos 100 pM, en particular de al menos 50 pM.

Proteína "tau soluble" tal como se usa en la presente se refiere a proteínas que consisten en ambos monómeros de proteína tau/péptido completamente solubilizados o de péptidos/proteínas tipo tau, o de péptidos/proteínas tau modificadas o truncadas o de

otros derivados de monómeros de péptidos/proteínas tau, y de oligómeros de proteína tau. "Tau soluble" excluye ovillos particularmente neurofibrilares (NFT).

Proteína "tau insoluble" tal como se usa en la presente se refiere a múltiples monómeros agregados de péptidos o proteínas tau o de péptidos/proteínas tipo tau, o de péptidos/proteínas tau modificadas o truncadas o de otros derivados de monómeros de péptidos/proteínas tau que forman estructuras oligoméricas o poliméricas que son insolubles tanto *in vitro* en medio acuoso e *in vivo* en el organismo mamífero o humano, más en particular en el cerebro, pero en particular a múltiples monómeros agregados de tau o de péptidos/proteínas tau modificados o truncados o de sus derivados que son insolubles en el organismo mamífero o humano, más en particular en el cerebro, respectivamente. "Tal insoluble" incluye en particular ovillos neurofibrilares (NFT).

"Tau monomérico" o "monómero tau" tal como se usa en la presente se refiere a proteínas tau completamente solubilizadas sin complejos agregados en medio acuoso.

"Tau agregado", "tau oligomérico" y "oligómero tau" se refieren a múltiples monómeros agregados de péptidos o proteínas tau o de péptidos/proteínas tipo tau, o de péptidos/proteínas tau modificados o truncados o de otros derivados de péptidos/proteínas tau que forman estructuras oligoméricas o poliméricas que son insolubles o solubles tanto en medio acuoso in vitro como in vivo en el organismo mamífero o humano, más en particular en el cerebro, pero en particular a múltiples monómeros agregados de tau o de péptidos/proteínas tau modificados o truncados o de sus derivados que son insolubles o solubles en el organismo mamífero o humano, más en particular en el cerebro, respectivamente.

En una forma de realización, la presente invención provee una composición farmacéutica que comprende un péptido de unión o una parte funcional de él, en particular un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o una parte funcional de él, o un polinucleótido que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica dicho péptido de unión o anticuerpo, de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriores y reivindicada en la presente, o una combinación de ellos, en una cantidad terapéuticamente efectiva junto con un portador farmacéuticamente aceptable.

Los portadores, diluyentes y/o excipientes farmacéuticos adecuados resultan conocidos en el arte e incluyen, por ejemplo, soluciones salinas tamponadas de fosfato, agua, emulsiones tales como emulsiones de aceite/agua, varios tipos de agentes humectantes, soluciones estériles, etc.

Los péptidos de unión de acuerdo con la invención que incluyen anticuerpos, anticuerpos parcialmente monoclonales y sus fragmentos activos pueden ser preparados

en una formulación fisiológicamente aceptable y pueden comprender un portador, diluyente y/o excipiente farmacéuticamente aceptable mediante el uso de técnicas conocidas. Por ejemplo, los péptidos de unión de acuerdo con la invención y de acuerdo con lo descripto en la presente que incluyen cualquier péptido de unión funcionalmente equivalente o partes funcionales de él, en particular los anticuerpos monoclonales de la invención que incluyen cualquier anticuerpo funcionalmente equivalente o partes funcionales de él, son combinados con un portador, diluyente y/o excipiente farmacéuticamente aceptable para formar una composición terapéutica. Los portadores, diluyentes y/o excipientes farmacéuticos adecuados resultan conocidos en el arte e incluyen, por ejemplo, soluciones salinas tamponadas de fosfato, agua, emulsiones tales como emulsiones de aceite/agua, varios tipos de agentes humectantes, soluciones estériles, etc.

La formulación de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede ser lograda de acuerdo con la metodología estándar conocida por los expertos en el arte.

Las composiciones de la presente invención pueden ser administradas a un sujeto en forma de sólido, líquido o aerosol en una dosis farmacéuticamente efectiva adecuada. Entre los ejemplos de composiciones sólidas de incluyen píldoras, cremas y unidades de dosificación implantables. Las píldoras pueden ser administradas en forma oral. Las cremas terapéuticas pueden ser administradas en forma tópica. Las unidades de dosificación implantables pueden ser administradas en forma local, por ejemplo, en el lugar del tumor, o pueden ser implantadas para la liberación sistemática de la composición terapéutica, por ejemplo, en forma subcutánea. Entre los ejemplos de composiciones líquidas se incluyen formulaciones adaptadas para la inyección intramuscular, subcutánea, intravenosa, intraarterial y formulaciones para la administración tópica e intraocular. Entre los ejemplos de formulaciones en aerosol se incluyen las formulaciones para inhalar para ser administradas a los pulmones.

Las composiciones pueden ser administradas por vías de administración estándar. En general, la composición puede ser administrada por vía tópica, oral, rectal, nasal, intradérmica, intraperitoneal o parenteral (por ejemplo, intravenosa, subcutánea o intramuscular).

Además, la composición puede ser incorporada en matrices de liberación constante tales como polímeros biodegradables, donde los polímeros son implantados en las proximidades de la zona donde se desea realizar la administración, por ejemplo, en el sitio de un tumor. El método incluye la administración de una dosis única, la

administración de dosis repetidas a intervalos de tiempo previamente determinados y la administración constante durante un período de tiempo previamente determinado.

De la forma utilizada en la presente, una matriz de liberación constante es una matriz hecha de materiales, por lo general de polímeros, que son degradables a través de hidrólisis enzimática o de ácido/base o por disolución. Una vez introducida en el cuerpo, la matriz reacciona ante las enzimas y los fluidos corporales. La matriz de liberación constante es seleccionada de manera conveniente mediante los materiales biocompatibles tales como liposomas, polilácticos (ácido poliláctido), poliglicólido (polímero de ácido glicólico), co–glicólido poliáctido (copolímeros de ácido láctico y ácido glicólico), polianhídridos, poli(orto)ésteres, polipéptidos, ácido hialurónico, colágeno, sulfato de condroitina, ácidos carboxílicos, ácidos grasos, fosfolípidos, polisacáridos, ácidos nucleicos, ácidos de poliamino, aminoácidos tales como fenilalanina, tirosina, isoleucina, polinucleótidos, polivinilpolipropileno, polivinilpirrolidona y silicona. Una matriz biodegradable de preferencia es una matriz de uno de los siguientes: poliláctido, poliglicólido o co–glicólido poliláctico (copolímeros de ácido láctico y ácido glicólico).

Los expertos en el arte saben que la dosificación de la composición dependerá de varios factores tales como, por ejemplo, el estado que se esté tratando, la composición en particular que se emplee y otros factores clínicos tales como el peso, el tamaño, el sexo y la salud general del paciente, la superficie corporal, el compuesto particular o la composición particular a ser administradas, otros fármacos que sean administrados en ese momento y la vía de administración.

La composición de acuerdo con la invención puede ser administrada en combinación con otras composiciones que comprenden una sustancia o compuesto biológicamente activo como ser, por ejemplo, un compuesto conocido empleado en la medicación de tauopatías y/o de amiloidosis, un grupo de enfermedades y trastornos asociados con una proteína amiloide o tipo amiloide como ser la proteína β–amiloide involucrada en la enfermedad de Alzheimer.

La otra sustancia o compuesto biológicamente activo puede ejercer su efecto biológico mediante el mismo mecanismo o uno similar al de la vacuna terapéutica de acuerdo con la invención o mediante un mecanismo de acción no relacionado o mediante una pluralidad de mecanismos de acción relacionados y/o no relacionados.

En general, el otro compuesto biológicamente activo puede incluir mejoradores de neurotransmisión, fármacos psicoterapéuticos, inhibidores de acetilcolina esterasa, bloqueadores de canales de calcio, aminas biogénicas, tranquilizantes de benzodiacepina, síntesis de acetilcolina, mejoradores de almacenamiento o liberación,

agonistas de receptores postsinápticos de acetilcolina, inhibidores de oxidasa A o B de monoamina, antagonistas de receptores de N–metil–D–aspartato glutamato, fármacos antiinflamatorios no esteroides, antioxidantes y antagonistas de receptores serotonérgicos.

En particular, el agente o compuesto biológicamente activo puede comprender al menos un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en compuestos contra estrés oxidativo, compuestos antiapoptóticos, quelantes de metal, inhibidores de reparación de ADN como ser pirencepina y metabolitos, ácido 3–amino–1–propanosulfónico (3APS), 1,3–propanodisulfonato (1,3–PDS), activadores de secretasa, inhibidores de [beta]– y 7–secretasa, proteínas tau, neurotransmisores, moléculas antiinflamatorias, "antipsicóticos atípicos" tales como, por ejemplo, clozapina, ziprasidona, risperidona, aripiprazol u olanzapina, o inhibidores de galantamina (ChEIs) como ser tacrina, rivastigmina, donepezil, y/o galantamina y otros fármacos y suplementos dietarios tales como, por ejemplo, vitamina B12, cisteína, un precursor de acetilcolina, lecitina, colina, ginkgo biloba, acetil–L–carnitina, idebenona, propentofilina, o un derivado de xantina, junto con un péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, particularmente anticuerpos monoclonales y fragmentos activos de ellos, y en forma opcional, un portador farmacéuticamente aceptable y/o un diluyente y/o un excipiente e instrucciones para el tratamiento de enfermedades.

En otra forma de realización, la composición de acuerdo con la invención puede comprender niacina o memantina junto con un péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales y sus fragmentos activos, y en forma opcional, un portador y/o un diluyente y/o un excipiente farmacéuticamente aceptable

En otra forma de realización de la invención, las composiciones provistas comprenden "antipsicóticos atípicos" tales como, por ejemplo, clozapina, ziprasidona, risperidona, aripiprazol u olanzapina para el tratamiento de síntomas psicóticos positivos y negativos que incluyen alucinaciones, delirios, trastornos en el pensamiento (manifestados por una incoherencia marcada, descarrilamiento, tangencialidad), y comportamiento desorganizado o fuera de lo común, así como también anhedonia, afecto aplanado, apatía y insociabilidad, junto con el péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales y sus fragmentos activos, y en forma opcional, un portador y/o un diluyente y/o un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Otros compuestos que pueden ser empleados en forma adecuada en composiciones además del péptido de unión de acuerdo con la invención, son aquellos divulgados por ejemplo en el documento WO 2004/058258 (referirse en especial a las páginas 16 y 17) que incluyen dianas de fármacos terapéuticos (páginas 36 a 39), ácidos alcanosulfónicos y ácidos alcanosulfúricos (páginas 39 a 51), inhibidores de colinestearasa (páginas 51 a 56), antagonistas de receptores de NMDA (páginas 56 a 58), estrógenos (páginas 58 a 59), fármacos antiinflamatorios no esteroides (páginas 60 a 61), antioxidantes (páginas 61 a 62), agonistas de receptores activados por proliferadores de peroxisoma (PPAR) (páginas 75 a 77), inhibidores de formación de amiloide (páginas 77 a 78), quelantes de metal (páginas 78 a 79), antipsicóticos y antidepresivos (páginas 80 a 82), suplementos dietarios (páginas 83 a 89) y compuestos que aumentan la disponibilidad de sustancias biológicamente activas en el cerebro (referirse a las páginas 89 a 93), y profármacos (páginas 93 y 94), cuyo documento es incorporado a la presente a modo de referencia, pero en especial los compuestos mencionados en las páginas indicadas con anterioridad.

La materia farmacéuticamente activa proteinácea puede estar presente en cantidades comprendidas entre 1 ng y 10 mg por dosis. En general, el régimen de administración debe estar entre 0,1 [mu]g y 10 mg del anticuerpo de acuerdo con la invención, en particular entre 1,0 [mu]g y 1,0 mg, y en forma más particular entre 1,0 [mu]g y 100 [mu]g, y todos los números que se encuentren dentro de estos rangos también son parte de la invención. Si la administración se produce a través de una infusión continua, una dosis más adecuada puede encontrarse entre unidades de 0,01 [mu]g y 10 mg por kilo de masa corporal por hora, y todos los números que se encuentren dentro de estos rangos también son parte de la invención.

En general, la administración será parenteral, por ejemplo, intravenosa. Las preparaciones para la administración parenteral incluyen soluciones estériles acuosas o no acuosas, suspensiones y emulsiones. Entre los solventes no acuosos se incluyen, sin que la enumeración sea taxativa, propilenglicol, polietilenglicol, aceite vegetal como ser aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. Los solventes acuosos pueden seleccionarse entre el grupo que consiste en agua, alcohol/soluciones acuosas, emulsiones y suspensiones que incluyen medios salinos o tamponados. Entre los vehículos parenterales se incluyen solución de cloruro de sodio, dextrosa de Ringer, cloruro de sodio y dextrosa, Ringer lactato o aceites fijos. Entre los vehículos intravenosos se incluyen reaprovisionantes de fluidos y nutrientes, reaprovisionantes de electrolitos (como aquellos basados en dextrosa de Ringer) y otros. Los conservantes

también pueden estar presentes tales como, por ejemplo, agentes antimicrobiales, antioxidantes, quelantes, gases inertes, etc.

La composición farmacéutica puede comprender, además, portadores proteináceos tales como, por ejemplo, albúmina de suero o inmunoglobulina, en particular de origen humano. Otros agentes biológicamente activos pueden estar presentes en la composición farmacéutica de la invención según su uso pretendido.

Cuando el objetivo de unión está ubicado en el cerebro, ciertas formas de realización de la invención contemplan el péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales y sus fragmentos activos, para atravesar la barrera hematoencefálica. Determinadas enfermedades neurodegenerativas están asociadas con un aumento de permeabilidad de la barrera hematoencefálica, de manera que el péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales o sus fragmentos activos puedan ser introducidos con facilidad en el cerebro. Cuando la barrera hematoencefálica permanece intacta, existen varios enfoques conocidos en el arte para transportar moléculas a través de ella, que incluyen, pero sin que la enumeración sea taxativa, método físicos, métodos basados en lípidos y métodos basados en los canales y en los receptores.

Los métodos físicos para transportar el péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales, o sus fragmentos activos, a través de la barrera hematoencefálica incluyen, pero sin que la enumeración sea taxativa, sortear la barrera hematoencefálica por completo o mediante la creación de aberturas en la barrera hematoencefálica. Los métodos para rodearla incluyen, pero sin que la enumeración sea taxativa, la inyección directa en el cerebro (referirse, por ejemplo, a Papanastassiou et al, *Gene Therapy* 9: 398–406 (2002)) y al implante de un dispositivo de administración en el cerebro (referirse, por ejemplo, a Gill et al., *Nature Med.* 9: 589–595 (2003); y a Gliadel Wafers(TM), Guildford Pharmaceutical). Los método para crear aberturas en la barrera incluyen, sin que la enumeración sea taxativa, ultrasonido (referirse, por ejemplo, a la publicación de patente estadounidense N.° 2002/0038086), presión osmótica (por ejemplo, por administración de manitol hipertónico ((Neuwelt, E. A., *Implication of the Blood–Brain Barrier and its Manipulation*, Vols 1 & 2, Plenum Press, N. Y. (1989)), permeabilización, por ejemplo, por bradiquinina o permeabilizante A–7 (referirse, por ejemplo a las patentes estadounidenses N.° 5.112.596, 5.268.164, 5.506.206 y 5.686.416), y transfección de neuronas que unen la barrera hematoencefálica con vectores que contienen genes que codifican el péptido de

unión o fragmento que une el antígeno (referirse, por ejemplo, a la publicación de la patente estadounidense N.° 2003/0083299)

Los métodos de transporte basados en lípidos del péptido de unión de acuerdo con la invención incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales o uno de sus fragmentos activos a través de la barrera hematoencefálica incluyen, sin que la enumeración sea taxativa, el encapsulamiento del péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales o su fragmento activo en liposomas que son acoplados a fragmentos activos de ellos que se unen a receptores en el endotelio vascular de la barrera hematoencefálica (referirse, por ejemplo, a la publicación de solicitud de patente estadounidense N.° 2002/0025313), y el revestimiento del péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales o su fragmento activo en partículas de lipoproteína de baja densidad (referirse, por ejemplo, a la publicación de solicitud de patente estadounidense N.° 2004/0204354) o apolipoproteína E (referirse, por ejemplo, a la publicación de solicitud de patente estadounidense N.° 2004/0131692).

Los métodos basados en canales y receptores para transportar el péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales, o su fragmento activo, a través de la barrera hematoencefálica incluyen, pero sin que la enumeración sea taxativa, el uso de bloqueadores de glucocorticoide para aumentar la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (referirse, por ejemplo, a las publicaciones de solicitudes de patentes estadounidenses N.° 2002/0065259, 2003/0162695 y 2005/0124533); la activación de canales potasio (referirse, por ejemplo, a la publicación de solicitud de patente estadounidense N.° 2005/0089473), la inhibición de transportadores de fármacos ABC ((referirse, por ejemplo, a la publicación de solicitud de patente estadounidense N.° 2003/0073713); el revestimiento de anticuerpos con transferrina y la modulación de actividad de uno o más receptores de transferrina (referirse, por ejemplo, a la publicación de solicitud de patente estadounidense N.° 2003/0129186) y la cationización de los anticuerpos (referirse, por ejemplo, a la publicación de solicitud de patente estadounidense N.° 5.004.697).

Se pueden proporcionar únicas o repetidas administraciones de péptido de unión de acuerdo con la invención que incluyen anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales, o uno de sus fragmentos activos, o de una composición farmacéutica de acuerdo con la invención a un sujeto durante un período prolongado. La duración de administración puede ser de entre 1 semana y de hasta 12 meses o más. Durante este tiempo, el péptido de unión, anticuerpo o composición farmacéutica se puede administrar

una vez por semana, una vez cada dos semanas, tres, semanas, cuatro semanas, etc. o con una frecuencia mayor o menor según las necesidades del sujeto por tratar.

En otra forma de realización, la presente invención provee métodos y kits para la detección y el diagnóstico de enfermedades, trastornos o estados asociados con la proteína tau, que incluyen enfermedades o trastornos neurodegenerativos tales como tauopatías que comprenden un grupo heterogéneo de enfermedades y trastornos neurodegenerativos que incluyen enfermedades o trastornos que muestran coexistencia de patologías tau y amiloides que incluyen, sin que la enumeración sea taxativa, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Creutzfeldt–Jacob, demencia pugilística, síndrome de Down, enfermedad de Gerstmann–Sträussler–Scheinker, miositis por cuerpos de inclusión y angiopatía amiloide cerebral por proteína priónica, lesión cerebral traumática y otras enfermedades o trastornos que no muestran una patología amiloide distinta que incluyen, pero sin que la enumeración sea taxativa, esclerosis lateral amiotrófica/complejo parkinsonismo–demencia de Guam, enfermedad neuromotriz no Guam con ovillos neurofibrilares, demencia con gránulos argirofílicos, degeneración corticobasal, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, demencia frontotemporal con parkinsonismo vinculado al cromosoma 17, enfermedad de Hallevorden–Spatz, atrofia de múltiples sistemas, enfermedad de Niemann–Pick, tipo C, degeneración palido–ponto–nigral, enfermedad de Pick, gliosis subcortical progresiva, parálisis supranuclear progresiva, demencia por ovillos neurofibrilares, parkinsonismo postencefálico, distrofia miotónica. Las anomalías patológicas pueden ser producidas por la formación de lesiones neurofibrilares o pueden estar asociadas con ellas, donde la patología cerebral predominante es la tauopatía.

Además, la presente invención provee métodos y kits para diagnosticar una predisposición a enfermedades, trastornos o estados asociados con la proteína tau, que incluyen enfermedades o trastornos neurodegenerativos tales como tauopatías que comprenden un grupo heterogéneo de enfermedades o trastornos neurodegenerativos que incluyen enfermedades o trastornos que muestran coexistencia de patologías tau o amiloides, o para monitorear una enfermedad de residuo mínimo en un paciente o para predecir la capacidad de respuesta de un paciente ante un tratamiento con un péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales y sus fragmentos activos, o una composición de acuerdo con la invención y según se la describe en la presente. Estos métodos incluyen métodos inmunológicos conocidos comúnmente empleados para detectar o cuantificar sustancias en muestras biológicas o en un estado *in situ*.

El diagnóstico de una enfermedad o estado asociado con la proteína tau o de una predisposición a una enfermedad o estado asociado con la proteína tau en un sujeto que necesita de ello, en particular un mamífero, en forma más particular un ser humano, que incluye enfermedades o trastornos neurodegenerativos tales como tauopatías que comprenden un grupo heterogéneo de enfermedades o trastornos neurodegenerativos que incluyen enfermedades o trastornos que muestran coexistencia de patologías tau o amiloides, puede lograrse mediante la detección del unión inmunoespecífico de un péptido de unión de la invención, en particular de un anticuerpo, en particular de un anticuerpo monoclonal o un fragmento activo de él, con un epítope de la proteína tau en una muestra o in situ, que incluye poner la muestra o una parte del cuerpo específica o zona del cuerpo que se sospecha contiene la proteína tau en contacto con un anticuerpo que una un epítope de la proteína tau, lo que permite la formación del complejo inmunológico y la correlación de la presencia o ausencia del complejo inmunológico con la presencia o ausencia de la proteína tau en la muestra o parte o área del cuerpo específica, donde, en forma opcional, se compara la cantidad del complejo inmunológico con un valor control normal, donde un aumento en la cantidad del complejo inmunológico comparado con un valor control normal indica que el sujeto sufre de una enfermedad o estado asociado a la proteína tau o se encuentra en riesgo de desarrollarlo.

El monitoreo de la enfermedad residual mínima en un sujeto, en particular un mamífero, en forma más particular un ser humano, después del tratamiento con un péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales y sus fragmentos activos, o una composición de acuerdo con la invención pueden ser logrados mediante la detección de la unión inmunoespecífica de un péptido de unión de la invención, en particular de un anticuerpo, en particular de un anticuerpo monoclonal o un fragmento activo de él, con un epítope de la proteína tau en una muestra o in situ, que incluye poner la muestra o una parte del cuerpo específica o zona del cuerpo que se sospecha contiene la proteína tau en contacto con un péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales y sus fragmentos activos, para unir un epítope de la proteína tau, lo que permite que el péptido de unión de la invención, en particular de un anticuerpo, en particular de un anticuerpo monoclonal o un fragmento activo de él, se unan con la proteína tau para formar un complejo inmunológico, donde se detecta la formación del complejo inmunológico y se logra la correlación de la presencia o ausencia del complejo inmunológico con la presencia o ausencia de la proteína tau en la muestra o parte o área del cuerpo específica, donde, en forma opcional, se compara la cantidad de dicho

complejo inmunológico con un valor control normal, donde un aumento en la cantidad de dicho complejo inmunológico comparado con un valor control normal indica que el sujeto aún puede sufrir de una enfermedad residual mínima.

La predicción de la capacidad de respuesta de un sujeto, en particular un mamífero, en forma más particular un ser humano, a un tratamiento con un péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales y sus fragmentos activos, o una composición de acuerdo con la invención pueden ser logrados mediante la detección de la unión inmunoespecífica de un péptido de unión de la invención, en particular de un anticuerpo monoclonal o un fragmento activo de él, con un epítope de la proteína tau en una muestra o *in situ*, que incluye poner la muestra o una parte del cuerpo específica o zona del cuerpo que se sospecha contiene la proteína tau en contacto con un péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales y sus fragmentos activos, que une un epítope de la proteína tau, lo que permite que el péptido de unión de la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales o sus fragmentos activos, se unan con la proteína tau para formar un complejo inmunológico, donde se detecta la formación del complejo inmunológico y se logra la correlación de la presencia o ausencia del complejo inmunológico con la presencia o ausencia de la proteína tau en la muestra o parte o área del cuerpo específica, donde, en forma opcional, se compara la cantidad de dicho complejo inmunológico con un valor control normal antes y después del inicio del tratamiento, donde una disminución en la cantidad de dicho complejo inmunológico indica que dicho paciente tiene una gran probabilidad de responder al tratamiento.

Las muestras biológicas que pueden emplearse en el diagnóstico de una enfermedad o estado asociado con la proteína tau, para diagnosticar una predisposición a una enfermedad o estado asociado co la proteína tau, que incluye enfermedades o trastornos neurodegenerativos tales como tauopatías que comprenden un grupo heterogéneo de enfermedades o trastornos neurodegenerativos que incluyen enfermedades o trastornos que muestran coexistencia de patologías tau o amiloides, o para monitorear una enfermedad de residuo mínimo en un paciente o para predecir la capacidad de respuesta de un paciente ante un tratamiento con un péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales y sus fragmentos activos, o una composición de acuerdo con la invención y según se la describe en la presente, por ejemplo, fluidos tales como suero, plasma, saliva, secreciones gástricas, moco, fluido cerebroespinal, fluido linfático y similares o muestras de tejido o células obtenidas de un organismo como ser tejido neural, cerebral, cardíaco o

vascular. Para determinar la presencia o ausencia de la proteína tau en una muestra, puede emplearse cualquier inmunoensayo conocido para los expertos en el arte como ser, por ejemplo, ensayos que utilicen métodos de detección indirecta con reactivos secundarios para su detección, ensayos de aglutinación e inmunoprecipitación y ELISA. Una descripción detallada de estos ensayos se encuentra, por ejemplo, en Harlow y Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* (*Cold Spring Harbor Laboratory*, Nueva York 1988 555–612, WO96/13590 de Maertens y Stuyver, Zrein et al. (1998) y WO96/29605.

Para un diagnóstico *in situ*, el péptido de unión de acuerdo con la invención incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales y sus fragmentos activos, de la invención o cualquier parte activa y funcional de él puede ser administrada al organismo a ser diagnosticado a través de métodos conocidos en el arte como ser, por ejemplo, inyección intravenosa, intranasal, intraperitoneal, intracerebral, intraarterial como ser una unión específica entre un anticuerpo de acuerdo con la invención con una región eptitópica en la proteína amiloide. El complejo de unión de péptido/antígeno puede ser detectado en forma conveniente a través de una etiqueta unida al péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales, o un fragmento funcional de él, o cualquier otro método de detección conocido en el arte.

Los inmunoensayos empleados en aplicaciones de diagnóstico o en aplicaciones para diagnosticar una predisposición a una enfermedad o estado asociado con la proteína tau, que incluyen enfermedades o trastornos neurodegenerativos tales como tauopatías que comprenden un grupo heterogéneo de enfermedades o trastornos neurodegenerativos que incluyen enfermedades o trastornos que muestran coexistencia de patologías tau o amiloides, o para monitorear una enfermedad de residuo mínimo en un paciente o para predecir la capacidad de respuesta de un paciente ante un tratamiento con un péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales y sus fragmentos activos, o una composición de acuerdo con la invención y según se la describe en la presente, típicamente se basan en antígenos etiquetados, péptidos de unión o reactivos secundarios para su detección. Estas proteínas o reactivos pueden ser etiquetados con compuestos que en general son conocidos para los expertos en el arte, que incluyen enzimas, radioisótopos y sustancias fluorescentes, luminiscentes y cromogénicas que incluyen, pero sin que la enumeración sea taxativa, partículas coloreadas tales como cuentas de látex y oro coloidales. De estos, puede usarse el etiquetado radioactivo para casi todos los tipos de ensayo y con la mayoría de las variantes. Las etiquetas conjugadas por enzimas son en particular útiles

cuando debe evitarse radioactividad o cuando se necesitan resultados rápidos. Aunque los fluorocromos requieren de un equipo costoso para su uso, proveen un método muy sensible para su detección. Los péptidos de unión útiles en estos ensayos son aquellos divulgados y reivindicados en la presente que incluyen anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales y anticuerpos policlonales de afinidad purificada.

En forma alternativa, el péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales y sus fragmentos activos, puede ser etiquetado en forma indirecta mediante la reacción con sustancias etiquetadas que cuentan con una afinidad para la inmunoglobulina, como ser los anticuerpos secundarios o de proteína A o G. El péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales y sus fragmentos activos, puede ser conjugado con una segunda sustancia y detectado con una tercera sustancia etiquetada que presenta una afinidad para la segunda sustancia conjugada al anticuerpo. Por ejemplo, el péptido de unión de acuerdo con la invención que incluye anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales y sus fragmentos activos, puede ser conjugado con biotina y el conjugado de biotina/péptido de unión detectado mediante avidina etiquetada o estreptavidina. De forma similar, el péptido de unión puede ser conjugado con un hapteno y el conjugado de hapteno/péptido de unión detectado mediante el uso de péptido de unión anti–hapteno etiquetado.

Los expertos en el arte conocerán estas y otras etiquetas adecuadas que pueden ser empleadas de acuerdo con la presente invención. La formulación de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede ser lograda de acuerdo con la metodología estándar conocida por los expertos en el arte. Las técnicas típicas son descriptas por Kennedy, J. H., et al., 1976 (*Clin. Chim. Acta* 70:1–31), y Schurs, A. H. W. M., et al. 1977 (*Clin. Chim Acta* 57:1–40). Las técnicas de acoplamiento mencionadas en estos últimos casos consisten en el método de glutaraldehído, el método de periodato, el método de dimaleimida y otros, y todos se incorporan a la presente a modo de referencia.

Los inmunoensayos actuales utilizan un método de anticuerpo doble para detectar la presencia de un analito, donde el anticuerpo es etiquetado en forma directa por su reactividad son un segundo anticuerpo que ha sido etiquetado con una etiqueta detectable. El segundo anticuerpo es, de preferencia, uno que se una con anticuerpos del animal del que deriva el anticuerpo monoclonal. En otras palabras, si el anticuerpo monoclonal es un anticuerpo de ratón, entonces el segundo anticuerpo etiquetado será un anticuerpo anti–ratón. Para el anticuerpo a ser usado en el ensayo descripto en la

presente, esta etiqueta es, de preferencia, una cuenta revestida con el anticuerpo, en particular, una cuenta magnética. Para el anticuerpo a ser usado en el inmunoensayo descripto en la presente, la etiqueta es, de preferencia, una molécula detectable como ser una sustancia radioactiva, fluorescente o electroquimicoluminiscente.

Un sistema de anticuerpo doble alternativo, al que con frecuencia se hace referencia como sistemas de formato rápido porque están adaptados a determinaciones rápidas de la presencia de un analito, también puede ser empleado dentro del alcance de la presente invención. El sistema requiere de una alta afinidad entre el anticuerpo y el analito. De acuerdo con una forma de realización de la presente invención, la presencia de la proteína amiloide es determinada mediante el uso de anticuerpos, cada uno específico para la proteína amiloide. Uno de dichos pares de anticuerpos es mencionado en la presente como un "anticuerpo detector" y el otro de dicho par de anticuerpos es mencionado en la presente como un "anticuerpo de captura". El anticuerpo monoclonal de la presente invención puede ser empleado como un anticuerpo de captura o bien, como un anticuerpo detector. El anticuerpo monoclonal de la presente invención también puede ser empleado como un anticuerpo de captura y detector, juntos en un único ensayo. Una forma de realización de la presente invención utiliza, de esta forma, el método tipo sándwich de anticuerpo doble para detectar la proteína amiloide en una muestra de fluido biológico. En este método, el analito (proteína amiloide) se encuentra entre el anticuerpo detector y el anticuerpo de captura, donde el anticuerpo de captura es inmovilizado en forma irreversible sobre un soporte sólido. El anticuerpo detector contendría una etiqueta detectable, con el fin de identificar la presencia del sándwich de anticuerpo–analito y así, la presencia del analito.

Entre las sustancias de fase sólida ilustrativas se encuentran, sin que la enumeración sea taxativa, placas de microtitulación, tubos de ensayo de poliestireno, cuentas magnéticas, plásticas o de vidrio y placas que son conocidos en el campo de los radioinmunoensayos e inmunoensayos de enzima. Los métodos para acoplar anticuerpos en fases sólidas también son conocidos para los expertos en el arte. Últimamente, se ha empleado una cantidad de materiales porosos tales como nylon, nitrocelulosa, acetato de celulosa, fibras de vidrio y otros polímeros porosos como soportes sólidos.

La presente invención también hace referencia a un kit de diagnóstico para detectar la proteína tau en una muestra biológica que comprende una composición de acuerdo con lo definido con anterioridad. Además, la presente invención se refiere al kit de diagnóstico que se acaba de mencionar que, además de una composición de acuerdo con lo definido con anterioridad, también comprende un reactivo de detección de acuerdo

con lo definido con anterioridad. La expresión "kit de diagnóstico" hace referencia, en general, a un kit de diagnóstico conocido en el arte. En forma más específica, esta última expresión hace referencia a un kit de diagnóstico de acuerdo con lo descripto en Zrein et al. (1998).

Otro objeto de la presente invención es el de provee nuevas inmunosondas y kits de ensayo para la detección y diagnóstico de enfermedades y estados asociados con la proteína tau que comprende péptidos de unión de acuerdo con la presente invención. Para la inmunosondas, los péptidos de unión están unidos en forma directa o indirecta a una molécula informante adecuada, por ejemplo, una enzima o un radionucleido. El kit de prueba incluye un recipiente que contiene uno o más péptidos de unión de acuerdo con la presente invención e instrucciones para el uso de los péptidos de unión con el fin de unir un antígeno tau para formar un complejo inmunológico y detectar la formación del complejo inmunológico de manera que la presencia o ausencia del complejo inmunológico se correlacione con la presencia o ausencia de la proteína tau.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Generación y detección selectiva de hibridomas y anticuerpos

El objetivo de este estudio fue el de generar y detectar en forma selectiva mAbs anti–tau (anticuerpos monoclonales). Se generaron hibridomas por fusión en un bazo de ratón inmunizado con vacuna de tau con una línea celular de mieloma. Se evaluaron los hibridomas para comprobar su capacidad de reacción con relación a la proteína tau de longitud completa fosforilada y no fosforilada, así como también los péptidos antigénicos de tau fosforilados y no fosforilados empleados en la preparación de la vacuna. Asimismo, se llevó a cabo una detección selectiva de hibridoma para comprobar la capacidad de reacción del sobrenadante de hibridomas respecto de los ovillos de tau mediante el uso de inmunoquímica en cortes de cerebro de ratón transgénico tau.

1.1 Métodos

1.1.1 Fusión

Se usó un ratón C57BL/6 de tipo salvaje vacunado con ACI–33 (Tau5–20 [pY18] para la producción de hibridoma. El ratón recibió un refuerzo con la vacuna ACI–33 el día 0 y nuevamente en el día 4 y se llevó a cabo la fusión el día 7. Se fundieron $173x10^6$ (ACI–33) esplenocitos a partir del ratón inmunizado con células de mieloma SP2–O–Ag14 a una razón de 5 esplenocitos por cada célula de mieloma.

Se usó un ratón C57BL/6 de tipo salvaje vacunado con ACI–35 (Tau5–408 [PS396, pS404] para la producción de hibridoma. El ratón recibió un refuerzo con la

vacuna ACI–35 el día 0 y nuevamente en el día 4 y se llevó a cabo la fusión el día (sic) se fundieron (sic) 6 x 10^7 (ACI–35) esplenocitos a partir del ratón inmunizado con células de mieloma 2 x 10^7 SP2–O–Ag14 a una razón de 3 esplenocitos por cada célula de mieloma.

Se usó un ratón C57BL/6 de tipo salvaje vacunado con ACI–36 (Tau401–418 [pS404/S409]) para la producción de hibridoma. El ratón recibió un refuerzo con la vacuna ACI–36 el día 0 y nuevamente en el día 4 y se llevó a cabo la fusión el día 7. Se fundieron 84x10^6 esplenocitos a partir del ratón inmunizado con células de mieloma SP2–O–Ag14 a una razón de 5 esplenocitos por cada célula de mieloma.

Se usó un ratón C57BL/6 de tipo salvaje vacunado con ACI–41 (combinación de Tau206–221 [pT212/pS214] y Tau196–211 [pS202/pT205]) para la producción de hibridoma. El ratón recibió un refuerzo con la vacuna ACI–41 el día 0 y nuevamente en el día 4 y se llevó a cabo la fusión el día 8. Se fundieron 162x106 esplenocitos a partir del ratón inmunizado con células de mieloma SP2–O–Ag14 a una razón de 5 esplenocitos por cada célula de mieloma.

Las cuatro fusiones dieron como resultado 8 x 96 placas de cavidades y los clones fueron denominados de acuerdo con la placa (del 1 al 8), luego con la hilera (de A a G) y por último, con la columna (de 1 a 12).

1.1.2 Método de detección selectiva de clones

En primer lugar, se evaluaron las 8 x 96 placas de cavidades dos veces para comprobar la expresión de IgG. Luego, se transfirieron los clones de expresión positiva en 24 placas de cavidades y se testearon los sobrenadantes celulares (= clones) de células en desarrollo en una prueba ELISA tau y una detección selectiva TAUPIR de inmunohistoquímica. Los sobrenadantes positivos en ELISA y/o TAUPIR fueron transferidos a T25 matraces y los clones fueron nuevamente sometidos a detección selectiva para comprobar la expresión de IgG en la prueba ELISA aTau y la detección selectiva TAUPIR.

1.1.3 Detección selectiva de IgG

Se revistieron placas de ELISA con 50 ul/cavidad de anticuerpo IgG antirratón (CER Groupe, Maloie, Bélgica) en un tampón de revestimiento durante 16 horas a una temperatura de 4 °C. Después de lavar las placas con PBS/Tween se aplicaron 100 ul/cavidad de una solución bloqueante durante 1 hora a temperatura ambiente. Se incubaron 50 ul de sobrenadante de hibridoma sin diluir durante 1 hora a temperatura ambiente. Después del paso del lavado, se aplicó una combinación de IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG3 antirratón conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP) (Ab Serotec, Raleigh, NC, EE. UU.) en las placas durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de

un lavado final, se llevó a cabo la detección con TMB (3–3',5,5'–tetrametilbencidina), el sustrato de fosfatasa para HRP y se leyeron las placas a 405 nm mediante el uso de un lector de placas ELISA. Los resultados son expresados como densidad óptica (DO).

1.1.4 Detección selectiva de ELISA de hibridomas tau

Se llevó a cabo una prueba ELISA de hibridomas en péptido pTau (ACI–33, T1.5: Tau5–20 [pY18]; ACI–35, T3.5: Tau393–408[pS396/pS404]; ACI–36, T4.5: Tau401–418 [pS404/S409]; ACI–41, T8.5: Tau206–221 [pT212/pS214] y T9.5: Tau196–211 [pS202/pT205] PolyPeptide Laboratories, Hillerød, Dinamarca), correspondientes al péptido tau (ACI–33, T1.6: Tau5–20; ACI–36, T4.6: Tau401–4; ACI–41, T8.6: Tau206–221 y T9.6: Tau196–211, PolyPeptide Laboratories, Hillerød, Dinamarca), proteína tau de longitud completa fosforilada (441aa) (*pTau protein*, Vandebroek et al., 2005) y proteína tau de longitud completa (441aa) (*Tau protein*. SignalChem, Richmond, Canadá). Por último, se usó albúmina de suero bovino (BSA) como control negativo.

Se revistieron placas con 10 µg/ml del péptido tau correspondiente y 1 µg/ml de la proteína tau correspondiente durante la noche a 4 °C. Después de lavar cada cavidad con PBS al 0,05% Tween 20 y de bloquear con BSA al 1% en PBS al 0,05% de Tween 20, se agregaron el sobrenadante de hibridoma sin diluir o control negativo de medio a las placas y se las incubó a 37 °C durante 2 horas. Después del lavado, se incubaron las placas con un anticuerpo total de IgG antirratón conjugado con fosfatasa (AP) (Jackson Laboratories, Baltimore, PA, EE. UU.) durante 2 horas a 37 °C. Después del lavado, se incubaron las placas con pNPP (paranitrofenilfosfato), el sustrato de fosfatasa para AP y se leyeron las placas a 405 nm mediante el uso de un lector de placas ELISA. Los resultados son expresados como densidad óptica (DO).

1.1.5 Detección selectiva de hibridomas IHC: unión de anticuerpos anti–tau con ovillos en secciones de cerebro de ratones transgénicos (TAUPIR)

Los experimentos TAUPIR fueron realizados de acuerdo con el protocolo del Ejemplo 3.1.2.

1.1.6 Detección selectiva de IgG de matraces T25

Se revistieron placas de ELISA con 5 ug/ml de anticuerpo de fragmento específico IgG F(ab')2 antirratón (Jackson Laboratories, Baltimore, PA, EE. UU.) en un tampón de revestimiento de carbonato–bicarbonato con un pH de 9,6 (Sigma, Buchs, Suiza) durante la noche a 4 °C. Después de lavar las placas, se incubaron el sobrenadante de hibridoma sin diluir, el anticuerpo IgG de control positivo (6E10 a 1ug/ml: Covance, Emeryville, CA, EE. UU.) o de control negativo (medio de cultivo solo) durante 1 hora a temperatura ambiente. Después del paso del lavado, se incubó el anticuerpo de fragmento específico

Fcγ de IgG antirratón de cabra conjugado con AP secundario (subclases 1+2a+2b+3) (Jackson Laboratories, Baltimore, PA, EE. UU.) en placas durante 2 horas a 37 °C. Después del lavado final, se llevó a cabo la detección con pNPP (paranitrofenilfosfato), el sustrato de fosfatasa para AP y se leyeron las placas a 405 nm mediante el uso de un lector de placas ELISA. Los resultados son expresados como densidad óptica (DO).

1.2 Resultados

1.2.1 Hibridomas ACI–33

Se sometieron a detección selectiva los sobrenadantes celulares de las 8 x 96 placas de cavidades resultantes de la fusión para la producción de IgG. En las 768 placas (8 x 96 placas), 277 placas testeadas resultaron positivas respecto de la expresión de IgG y fueron transferidas a 24 placas de cavidades. En las 24 placas de cavidades, se hizo desarrollar 79 clones y se analizó el sobrenadante a partir de esas células. Los clones positivos fueron transferidos además en matraces T25 y los sobrenadantes fueron sometidos a detección selectiva para la producción de IgG, ELISA y TAUPIR (Tabla 2).

El clon 6C10 fue el único positivo en las 3 detecciones selectivas y fue seleccionado por subclonación.

1.2.2 Hibridomas ACI–36

Se sometieron a detección selectiva los sobrenadantes celulares de las 8 x 96 placas de cavidades resultantes de la fusión para la producción de IgG. En las 768 placas (8 x 96 placas), 333 placas testeadas resultaron positivas respecto de la expresión de IgG y fueron transferidas a 24 placas de cavidades. En las 24 placas de cavidades, se hizo desarrollar 75 clones y se analizó el sobrenadante a partir de esas células. Los clones positivos fueron transferidos además en matraces T25 y los sobrenadantes fueron sometidos a detección selectiva para la producción de IgG, ELISA y TAUPIR (Tabla 3).

Con el fin de seleccionar clones para los siguientes pasos, se llevó a cabo una clasificación de todos los sobrenadantes positivos para detecciones selectivas de IgG/ELISA/TAUPIR sobre la base de los resultados de ELISA y TAUPIR. La clasificación de los resultados de ELISA y TAUPIR fue llevada a cabo de acuerdo con lo explicado en la sección de métodos. La tinción TAUPIR fue casi idéntica para los cinco clones primeros y esto correspondió a los resultados de ELISA. Se descartó 4C12 dado que fue encontrado en la misma placa que 4C1, lo que aumentó la probabilidad de que los 2 clones fueran los mismos (reconociendo el mismo epítope). Los mejores 4 clones seleccionados fueron 3A8, 2B6, 4C1 y 6H1. Los otros 6 clones (4C12, 2G1, 2F9, 7D6, 3B9, 4E12) fueron conservados como soporte.

Se llevó a cabo una clasificación de los 10 clones que mostraron positividad en la prueba ELISA y TAUPIR para seleccionar los mejores (Tabla 4). Los resaltados en gris son los mejores 5 clones.

1.2.3 Hibridomas ACI–41

Se sometieron a detección selectiva los sobrenadantes celulares de las 8 x 96 placas de cavidades resultantes de la fusión para la producción de IgG. En las 768 placas (8 x 96 placas), 215 placas testeadas resultaron positivas respecto de la expresión de IgG y fueron transferidas a 24 placas de cavidades. En las 24 placas de cavidades, se hizo desarrollar 81 clones y se analizó el sobrenadante a partir de esas células. Los clones positivos fueron transferidos además en matraces T25 y los sobrenadantes fueron sometidos a detección selectiva para la producción de IgG, ELISA y TAUPIR (Tabla 5).

Los clones 5D10 y 7C2 fueron los únicos positivos en las 3 detecciones selectivas y fueron seleccionados por subclonación. El clon 5D10 une solamente el péptido T8.5 mientras que el clon 7C2 une los dos péptidos de la vacuna ACI–41 (T8.5 y T9.5) (referirse a la Figura 10 en la solicitud de patente de PCT (PCT/EP2010/054418).

El subclón 5D10A4 que se origina a partir de 5D10 era específico para el péptido p–tau.

1.3. Conclusión

Los anticuerpos generados han mostrado una alta especificidad a los péptidos pTau con solo una unión marginal con los péptidos no fosforilados.

A partir de 4 fusiones (ACI–33, ACI–36, ACI–35 y ACI–41), se depositó un total de 16 clones en DSMZ (Tabla 1) y fueron seleccionados para una subclonación adicional.

Los clones madre positivos mencionados con anterioridad fueron cultivados en forma adicional en 96 placas de cavidades, luego en 24 placas de cavidades y por último, en matraces T25. En cada etapa, los sobrenadantes de los clones de hibridoma fueron sometidos a detección selectiva por ELISA, TAUPIR y transferencia Western.

Ejemplo 2: Clonación de regiones variables de cadena ligera y pesada de anticuerpos

Los genes de región variable pesada y ligera de anticuerpos a partir de células de hibridoma son clonados y las secuencias de ADN y la ubicación de las regiones que determinan complementariedad (CDRs) son determinadas así como también las características de unión de los anticuerpos.

Se preparó ARN total a partir de 3 x 10^6 células de hibridoma (1 vial) mediante el uso del *Qiagen RNeasy mini kit* (Cat No: 74104). Se eluyó ARN en 50 mL de agua y se lo verificó en un gel de agarosa al 1,2%.

Se prepararon cADNs V_H y V_K mediante el uso de transcriptasa inversa con cebadores de región constante IgG y kappa. Se ampliaron las primeras cadenas de cADNs mediante por PCR mediante el uso de un gran conjunto de cebadores de secuencia de señal. Los ADNs amplificados fueron purificados con gel y clonados en el vector pGem® T Easy (Promega). Los clones V_H y V_K obtenidos fueron evaluados para comprobar los insertos del tamaño esperado. La secuencia de ADN de clones seleccionados fue determinada en ambas direcciones por secuenciación de ADN automatizada. Las ubicaciones de las regiones que determinan complementariedad (CDRs) en las secuencias fueron determinadas con referencia a otras secuencias de anticuerpo (Kabat EA *et al.*, 1991).

Ejemplo 3: Estudios de unión I

El objetivo fue medir la unión de fosfo–tau (pTau) de los anticuerpos generados a partir de hibridomas subclonados derivados de ratones inmunizados con las vacunas liposomales tau. Para evaluar esto, se utilizó un ensayo de inmunoabsorción unida a enzimas (ELISA) para medir la unión de los anticuerpos purificados tanto en la proteína tau de longitud completa fosforilada y no fosforilada, así como también los péptidos antigénicos de tau fosforilados y no fosforilados empleados en la preparación de la vacuna liposomal.

La detección selectiva fue completada a través de otros dos métodos. Se realizó inmunohistoquímica (IHC) en secciones de cerebro de una animal transgénico tau (TAUPIR) mediante el uso de un anticuerpo anti–tau como el anticuerpo primario. En forma adicional, se llevó a cabo una transferencia Western (WB) en homogenatos de proteína de cerebro de ratones transgénicos tau, mediante el uso de un anticuerpo anti–tau como anticuerpo de transferencia.

3.1 Métodos

3.1.1 Ensayo de unión fosfo–tau

Se generaron los anticuerpos anti–fosfo tau (isotipo IgG3 de ratón) de ratones vacunados con tau liposomal. Las vacunas liposomales eran preparaciones fosforiladas de un péptido fosfo–tau (p–tau). Los subclones de hibridoma que producen los anticuerpos anti–tau fueron seleccionados mediante la limitación de la dilución de los clones madre. Se realizó isotipificación para indicar la presencia de un clon de un solo isotipo. Los anticuerpos fueron producidos en frascos rotativos, purificados por cromatografía de afinidad, sometidos a filtración estéril a 0,22 µm, y cuantificados. Para evaluar la unión del anticuerpo de tau y p–tau, se usó un ensayo ELISA. En resumen, se revistieron 96 placas de cavidades Nunc MaxiSorp (Nunc, Roskilde, Dinamarca) con 1

µg/mL de proteína tau de longitud completa (441 aa) (SignalChem, Richmond, Canadá) o proteína tau fosforilada de longitud completa (441 aa) (Vandebroek et al., 2005). En forma adicional, se revistieron placas con 10 µg/mL de péptido derivado de tau. Para realizar una prueba de capacidad de reacción cruzada en secuencias de tau y p–tau que no fueron usadas en la preparación de la vacuna, se revistieron placas con 10 µg/mL de los siguientes péptidos: Tau5–20 (fosforilado y no fosforilado en Y18), Tau393–408 (fosforilado y no fosforilado en S396 y S404), Tau401–418 (fosforilado y no fosforilado en S404 y S409), Tau206–221 (fosforilado y no fosforilado en T212 y S214) y Tau196–211 (fosforilado y no fosforilado en S202 y T205). El revestimiento fue realizado durante la noche en solución salina tamponada con fosfato (PBS) a 4 °C. Se lavaron las placas con cuidado con 0,05% de Tween 20/PBS y luego fueron bloqueadas con 1% de albúmina de suero bovino (BSA) en 0,05% de Tween 20/PBS durante 1 hora a 37 °C. Luego, se agregó el anticuerpo que estaba siendo sometido a prueba en una serie de dilución de 8 a 16 dos veces entre 20 y 0 µg/mL, y se lo dejo incubar durante 2 horas a 37 °C. Luego, se lavaron las placas de acuerdo con lo descripto con anterioridad y se agregó anticuerpo secundario IgG antirratón conjugado con AP (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Suffolk, Inglaterra) en una dilución de 1/6000 en 0,05% de Tween 20/PBS durante 2 horas a 37 °C. Después del lavado, se incubaron las placas con una solución de fosfatasa de hexahidrato disódico de p–nitrofenilfosfato (pNPP; Sigma–Aldrich, Buchs, Suiza) y se leyeron las placas a 405 nm después de 2 a 16 horas de incubación mediante el uso de un lector de placas ELISA. Los resultados son expresados como densidad óptica (DO).

3.1.2 Unión de anticuerpos anti–tau con ovillos tau en secciones de cerebro de animales transgénicos tau (TAUPIR)

Se usaron cortes de cerebro de ratones transgénicos biGT doble transgénico adultos (de más de 18 meses de edad) (ratones transgénicos GSK–3–beta cruzados con ratones TPLH, que contienen la isoforma más prolongada (441aa) de tau humana con la mutación P301L). En forma adicional, también se usaron secciones de ratones nuligénicos tau (TKO, de 6 meses de edad). Las secciones del cerebro fueron lavadas durante 5 minutos en PBS y luego se las incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente en 1,5% de H_2O_2 en PBS:MeOH (1:1) para bloquear la actividad de peroxidasa endógena. Después de lavar las secciones 3 veces en PBST (PBS/0.1% TritonX100), fueron incubadas durante 30 minutos a temperatura ambiente en una solución de bloqueo de PBST + 10% de FCS (suero de ternero fetal). La incubación con el anticuerpo anti–tau que se sometió a prueba fue realizada durante la noche a 4 °C en diluciones indicadas en

PBST/10% FCS. Luego, se lavaron las secciones 3 veces en PBST antes de la incubación con anticuerpo secundario antirratón de cabra conjugado con HRP (adquirido en Dako, Glostrup, Dinamarca) en PBST/10% FCS durante 1 hora a temperatura ambiente. Antes de la detección, se lavaron las secciones 3 veces con PBST y se la incubó en 50 mM Tris/HCl con un pH de 7,6 durante 5 minutos. La detección se llevó a cabo mediante la incubación de las secciones durante 3 minutos en diaminobencidina (DAB: 1 comprimido en 10 ml de 50 mM Tris.HCl + 3 ul H_2O_2 30%; MP Biomedicals, Solon, OH, EE. UU.). La reacción fue detenida mediante el lavado de las secciones 3 veces en PBST. Luego, se transfirieron las secciones a placas silanizadas y secadas con aire sobre una placa calentada a 50 °C durante 2 horas. El contraste de color fue realizado mediante el uso de incubación con hematoxilina Mayers (Fluka Chemie, Buchs, Suiza) durante 1 minuto, seguido de un paso de lavado durante 4 minutos bajo agua corriente. Se deshidrataron las secciones haciéndolas pasar por un baño al 50%, 70%, 90% y 100% de etanol (dos veces en este último caso), y luego dos veces por xilol durante 1 minuto. Por último, las secciones fueron colocadas sobre DePex (BDH Chemicals Ltd, Poole, Inglaterra) bajo una placa de vidrio.

Adicionalmente, se usaron sobrenadantes de hibridoma en dilución 1/10 (todos los anticuerpos derivados de ACI–35 mostrados en la Tabla 1) para secar membranas con proteínas de homogenados de cerebro separados por SDS–PAGE de ratones transgénicos tau, ratones de tipo salvaje o ratones knock–out tau.

3.1.3 Unión de anticuerpo anti–tau con ovillos tau en secciones de cerebro de pacientes con AD y tauopatías (TAUPIR)

El ensayo de inmunorreacción del anticuerpo anti–tau ACI–36–3A8–Ab1 a p–tau en el cerebro humano fue realizado por TAUPIR.

Las secciones de parafina del cerebro fueron desparafinizadas haciéndolas pasar por xilol 2 veces durante 5 minutos y 2 veces durante 1 minuto en 100% EtOH, seguido del lavado de 1 minuto en 90%, 70% y 50% de EtOH y agua destilada, seguido de 2 lavados de 5 minutos en PBS.

Para recuperar el antígeno, se trataron las secciones con calentamiento durante 10 minutos en solución 0,01 M de ácido cítrico en agua (con un pH de 6,0) y enfriamiento durante 20 minutos. Las secciones fueron incubadas durante 15 minutos a temperatura ambiente en 1,5% de H_2O_2 en PBS:MeOH (1:1) para bloquear la actividad de la peroxidasa endógena. Después de lavar las secciones 3 veces en PBST (PBS/0,05%Tween–20), estas fueron incubadas durante 30 minutos en PBST + suero de ternero fetal al 10% (FCS) como solución de bloqueo. La incubación con el anticuerpo

anti–ptau primario ACI–36–3A8–Ab1 (410 ng/mL en tampón de bloqueo) fue realizada durante la noche a 4 °C. Luego, se lavaron las secciones 3 veces en PBST antes de la incubación con anticuerpo secundario antirratón de cabra conjugado con HRP (Dako, Glostrup, Dinamarca) diluido en una proporción de 1 a 500 en PBST/10% FCS durante 1 hora a temperatura ambiente. Antes de la detección, se lavaron las secciones 3 veces con PBS y se las incubó en 50 mM Tris/HCl con un pH de 7,6 durante 5 minutos. La detección fue realizada mediante la incubación de las secciones durante 3 minutos en diaminobencidina (DAB: 1 comprimido en 10 mL de 50 mM Tris–HCl + 3 µL H_2O_2 30%; MP Biomedicals, Solon, OH, EE. UU.). La reacción fue detenida mediante el lavado de las secciones 3 veces en PBS. El contraste de color fue realizado mediante el uso de incubación con hematoxilina Mayers (Fluka Chemie, Buchs, Suiza) durante 1 minuto, seguido de un paso de lavado durante 4 minutos bajo agua corriente. Se deshidrataron las secciones haciéndolas pasar por un baño al 50%, 70%, 90% y 100% de etanol (dos veces en este último caso), y luego dos veces por xilol durante 1 minuto.

Por último, las secciones fueron colocadas sobre DePex (BDH Chemicals Ltd, Poole, Inglaterra) bajo una placa de vidrio. Las secciones con tinción fueron examinadas por microscopía por luz blanca e imágenes digitales tomadas con una cámara 3CCD (Leica, Wetzlar, Alemania). Se tomaron las imágenes y se las analizó mediante el uso de un software dedicado (IM500, Leica). Las imágenes son mostradas con una aplicación de 20 x 1,6.

3.1.4 Transferencia Western (WB)

La unión del anticuerpo sometido a prueba a p–tau en el extracto de cerebro del animal transgénico fue realizada por WB. La homogenización del cerebro de ratones TKO, biGT, TPLH y FVB fue realizada en el tampón siguiente: 25 mM Tris/HCl pH7,6, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 30 mM NaF, 0,2 mM Na_3VO_4, 1 nM ácido ocádico, 1 mM fenilmetilsulfonilfluoruro (PMSF), 5 mM Na4P2O7, 1 comprimido cóctel de inhibidor de proteasa completo (CPIC) por cada 12 ml en total. Para obtener un homogenato de cerebro total, se homogenizó el cerebro en hielo en 1 vol/peso del hemisferio (ml/gr) con una mano de mortero de teflón/tubo de vidrio tipo alfarero accionado a motor a 700 rpm. Los homogenatos de cerebro totales fueron diluidos a la mitad en un tampón de muestra (125 mM Tris/HCl pH 6,8, 4% (p/v) sulfato de dodecilo de sodio (SDS), 20% glicerol, 0,01% azul bromofenol y 5% beta–mercapto–etanol), luego llevado con rapidez a 95 °C. Las muestras fueron mantenidas durante 5 minutos, diluidas a un cuarto en tampón de muestra, llevadas nuevamente a 95 °C y luego enfriadas y agitadas a 14.000 rpm durante 5 minutos para aclarar todo resto que no hubiera sido solubilizado. Se recolectaron los

sobrenadantes y se los cargó en gel de SDS–PAGE. La transferencia en membrana nitrocelulosa (Hybond–ECL) fue realizada en un tampón de transferencia (25 mM Tris pH 8,6, 190 mM glicina, 20% metanol). Las membranas fueron transformadas en la solución de bloqueo (0,1% de Tween de TBS (50 mM Tris.HCl, pH7,6, 150 mM NaCl y 5% de leche en polvo seca) antes de incubarlas durante la noche a 4 °C con el anticuerpo de la prueba diluido en la solución de bloqueo. La incubación con anticuerpo secundario de antirratón de cabra conjugado con HRP (Dako, Glostrup, Dinamarca) diluido en una proporción de 1 a 10.000 en solución de bloqueo fue llevada a cabo a temperatura ambiente durante 1 hora. La detección se llevó a cabo mediante el uso de reactivos de detección por transferencia Western de ECl de GE Healthcare.

3.2 Resultados

3.2.1 Ensayo ELISA y TAUPIR usando secciones de cerebro en ratones tau transgénicos tau positivos en ovillo

Se midió la unión de anticuerpos en comparación con el péptido tau fosforilado usado como inmunógeno, y con la proteína humana tau de longitud completa, fosforilada. Se trata de isoforma más prolongada de proteína humana tau que consiste en 441 aminoácidos. El péptido no fosforilado correspondiente y la proteína humana tau de longitud completa también fueron incluidos. De acuerdo con lo indicado en la Tabla 6, los anticuerpos demostraron una alta capacidad de unión con el péptido tau fosforilado, con una unión limitada o sin unión alguna a la proteína humana tau de longitud completa fosforilada. No se observó ninguna unión con el péptido tau no fosforilado correspondiente o con la proteína humana tau de longitud completa no fosforilada. Esto demuestra una alta capacidad de unión de anticuerpos anti–tau con los péptidos tau humana fosforilados.

Para evaluar la unión no específica respecto de otras secuencias tau fosforiladas y no fosforiladas, el anticuerpo fue sometido a una prueba para verificar la unión con cinco péptidos tau no fosfo y fosfo, uno de los cuales fue empleado como la secuencia de péptido de antígeno. No se observó ningún péptido tau fosfo o no fosfo con capacidad de reacción cruzada, salvo los péptidos usados en la vacuna, incluso a altas concentraciones de péptido.

La unión de anticuerpos anti–tau con p–tau en cerebros de ratones transgénicos tau fue evaluada por tinción de TAUPIR (Figura 1) y por WB (Figura 2). Los anticuerpos que demuestran unión con ovillos tau y cabezas de neurópilos están presentes en la corteza y el hipocampo de los cerebros de ratones transgénicos tau (biGT). Las diluciones de anticuerpo usadas para TAUPIR variaban de 0,05 a 0,0033 ug/mL. También

se usaron anticuerpos anti–tau como un anticuerpo primario en una WB mediante el uso de homogenatos de cerebro totales de ratones TKO, biGT, TPHL y FVB de tipo salvaje y se separaron por SDS–PAGE. Se usaron dos anticuerpos anti–p–tau comerciales como controles, MC1 y Tau5. Todos los anticuerpos anti–tau unidos a pTau están presentes en los cerebros de ratones transgénicos tau.

Blotting

En membranas que contenían homogenatos de proteína separados por SDS–PAGE de ratones transgénicos tau, ratones de tipo salvaje y ratones knock–out tau, todos anticuerpos ACI–35 (revelado en la Tabla 1) se unieron a bandas de proteína que tenían idéntico patrón de migración de 46 kDa que Tau y pTau (datos no mostrados).

3.2.2 Estudio de TAUPIR en secciones de cerebro de pacientes con EA y tauopatías

La capacidad del anticuerpo ACI–36–3A8–Ab1 para unirse con agregados de tau alojados en secciones de cerebro humano de sujetos con tauopatías diagnosticadas, incluso EA, FAD, AGD, FTDP–17, CBD y PSP, fue examinada por inmunohistoquímica TAUPIR (Fgura 2). El anticuerpo anti–ptau ACI–36–3A8–Ab1 unido a p–tau que contiene ovillos neurofibrilares (NFTs), hilos de neurópilo en secciones de cerebro humano y otras formas de acumulaciones de p–tau presentes en neuronas y en tipos de célula glial. En forma más específica, NFTs con tinción prominente de ACI–36–3A8–Ab1, hilos de neurópilo y neuritos distróficos que rodean las placas amiloides en cerebros con EA, que resultó de fácil observación en los sujetos diagnosticados con EA y FAD. En secciones de cerebro de AGD, tanto NFTs con tinción de ACI–36–3A8–Ab1 y los hilos de neurópilo con múltiples gránulos/granos argirofílicos claramente visibles (Figura 2). La tinción de las secciones de cerebro de PSP con ACI–36–3A8–Ab1 mostraron NFTs, hilos de neurópilo y neuritos distróficos. En forma adicional, las inclusiones tipo cuerpo de Pick y los astrositos positivos p–tau en penacho fueron advertidos con claridad al ser una característica abundante en PSP, donde la tinción de p–tau se extiende a través de toda la célula, incluso en procesos distales. En FTDP–17, el patrón de tinción también ilustró la heterogeneidad conocida de la enfermedad, no solo con NFTs detectados sino también con neuronas "aglobadas" acromáticas. El anticuerpo ACI–36–3A8–Ab1 también coloreó neuronas acromáticas hinchadas que eras ligeramente tau positivas, característica principal de CBD. Otra característica patológica prominente de CBD, es decir las inclusiones oligodendrogliales, denominadas cuerpos en espiral, también fueron bien detectadas por el anticuerpo ACI–36–3A8–Ab1. No se detectó ninguna tinción en un sujeto control AT8 negativo mientras que se identificó una tinción débil en un sujeto control AT8 positivo.

El uso de TAUPIR en secciones de cerebro humano de sujetos a los que previamente se les ha diagnosticado diferentes formas de tauopatía, el anticuerpo anti–ptau ACI–36–3A8–Ab1 demostró una buena unión con varias características patológicas ricas en p–tau presentes en los cerebros de estos sujetos.

Ejemplo 4: Estudios de unión II

El objetivo del estudio fue el de determinar la afinidad de unión entre los anticuerpos anti–tau y el péptido fosfo–tau mediante el uso de resonancia de plasmón superficial (SPR). El péptido fosfo–tau corresponde a la secuencia de péptido usada en la preparación de la vacuna para generar el anticuerpo anti–tau. Para estudiar esta interacción, se inmovilizaron fosfopéptidos en la superficie de un chip sensor y se monitoreó la unión en tiempo real utilizando SPR al hacer pasar el anticuerpo sobre el chip.

4.1 Métodos

4.1.1 Ensayo de unión por SPR

Todos los experimentos de SPR fueron llevados a cabo en un instrumento Biacore X (GE Healthcare). Los reactivos para la inmovilización (EDC, NHS y etanolamina), el chip sensor CM5 (carboximetildextrano) así como también el HBS–EP del tampón de corrida fueron adquiridos de GE Healthcare. Se solubilizaron péptidos fosfo–tau en PBS/tampón de acetato sódico (10 mM, con un pH de 5.0) en una relación de 1:1 vol/vol para dar una concentración de péptido final de 250 µg/ml. Esta solución de péptido fue luego acoplada a través de una célula de flujo (fc) 2 de un chip sensor CM5 que fue previamente activado mediante EDC/NHS. Después del acoplamiento, se pasó etanolamina sobre la superficie, lo que dio un nivel de inmovilización final de 218 RUs. Se sometieron a ensayo cinco concentraciones de los anticuerpos anti–tau mediante diluciones en serie a través de un tampón de corrida. Se produjeron inyecciones comenzando por la concentración más baja y se pasaron por la fc 1 y 2 a una velocidad baja de 30 µL/min durante 180 segundos. La célula de flujo 1 fue no derivatizada y las respuestas fueron tomadas de fc 2 para corregir el ruido del instrumento y los cambios de refracción de masa. Una vez finalizada la inyección, se lavaron las superficies de inmediato con tampón de corrida durante 300 segundos. Para eliminar el anticuerpo unido restante del chip, se llevó a cabo una regeneración de superficie mediante la inyección de un pulso (típicamente de 3 µl) de NaoOH 8 mM en NaCl 1M con contenido de agua. Se realizó un análisis cinético mediante el uso de algoritmos para integración numérica y análisis global a través de BIAevaluation 3.0. Los sensogramas obtenidos para las inyecciones de anticuerpo en diferentes concentraciones superpuestos y las

líneas de base ajustadas en cero. Para el ajuste de la curva, se adaptaron todos los datos en forma simultánea a un modelo homogéneo 1:1 (Langmuir).

De modo alternativo, se inmovilizó el péptido T3 biotinilado inmovilizado (T3.30) en un chip de estreptavidina Biacore SA (GE Healthcare) usando un instrumento Biacore X. Los anticuerpos se diluyeron en tampón de corrida de HBS–EP (GE Healthcare) y se inyectaron a 50 ul/min durante 120 s seguido de 100 s de disociación. La regeneración superficial se realizó usando un pulso (1–3 ul) de 16 mM de NaOH. El filtrado se realizó usando BIAevaluación y asumiendo una interacción de unión de Langmuir de 1:1.

Péptidos utilizados

T1.5	H–K(Ac)K(Ac)–RQEFEVMEDHAGTY[PO3H2]GL–K(Ac)K(Ac)–NH2	lot AW11309D
T4.5	H–K(Ac)K(Ac)–GDTS[PO3H2]PRHLS[PO3H2]NVSSTGSID–K(Ac)K(Ac)–NH2	lot CF09168
T3.30	Biotin–ligador LC–GVYKS[PO3H2]PVVSGDTS[PO3H2]PRHL–NH2	lot MI89P9–P12–2

4.2 Resultados

La unión de los anticuerpos anti–tau con el péptido tau fosforilado fue monitoreada en tiempo real mediante el uso de SPR. Podrían emplearse análisis de fases de asociación y disociación de unión de anticuerpos para determinar la constante de velocidad de asociación (k_a). la constante de velocidad de disociación (k_d) así como también la constante de disociación K_D. El anticuerpo ACI–33–6C10–Ab1 se une específicamente con un péptido T1.5 sobre la superficie de carboximetildextrano no derivatizada en el rango de 3.7 -→ 367 nM del anticuerpo. Los análisis cinéticos de los sensogramas revelaron una constante de velocidad de asociación de 9,46 x 10^5 $M^{-1}s^{-1}$ y la constante de velocidad de disociación de 3.27 x 10^{-3} s^{-1} (Tabla 7). Por lo tanto, la constante de disociación K_D fue determinada en 3,46 nM, lo que muestra que el anticuerpo reconoce el fosfopéptido T1.5 con una muy alta afinidad. Todos los anticuerpos evaluados mostraron una alta afinidad respecto de sus fosfopéptidos respectivos usados para la inmunización y la generación de hibridomas, pero también demostraron una pequeña afinidad con los no fosfopéptidos.

Ejemplo 5: Mapeo de epítope de anticuerpos anti–p–tau

5.1 Métodos

El mapeo de epítope de anticuerpos monoclonales de ratón anti fosfo tau fue realizado por ELISA mediante el uso de diferentes librerías de fosfo o no fosfo péptidos. Las secuencias de aminoácidos de librerías de péptidos usadas son mostradas en la Tabla 8. Cada librería consistía en péptidos biotinilados cortos que abarcan secuencias fosfo y no fosfo presentes en la vacuna de péptido. Las librerías de péptidos fueron adquiridas en ANAWA Trading S.A. El mapeo de epítope fue realizado de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Mimotopes). En resumen, las placas revestidas con estreptavidina (NUNC) fueron bloqueadas con BSA al 1% en solución salina tamponada con fosfato (PBS) durante la noche a 4 °C. Después del lavado con PBS– Tween 20 al 0,05%, las placas fueron revestidas durante 1 hora a temperatura ambiente con los diversos péptidos de cada librería, diluidos en BSA al 0.1%, azida de sodio al 0,1% en PBS hasta llegar a una concentración final de 10 µM. Después del lavado, se incubaron las placas durante 1 hora a temperatura ambiente con el anticuerpo a ser sometido a ensayo diluido en 40 ng/ml en BSA al 2%, y azida de sodio al 0,1% en PBS. Se lavaron las placas en anticuerpo secundario IgG antirratón conjugado con AP ((Jackson ImmunoResearch Laboratories, Suffolk, Inglaterra) en una dilución de 1/6.000 durante 1 hora a temperatura ambiente. Después del lavado final, se llevaron las placas incubadas con una solución sustrato de fosfatasa de hexahidrato de p–nitrofenilfosfato disódico (pNPP, Sigma–Aldrich, Buchs, Suiza) y se leyeron las placas a 405 nm transcurridas 2 horas de la incubación mediante el uso de un lector de placas ELISA. La unión fue considerada positiva si la densidad óptica (DO) era de al menos 2 veces mayor que la DO base.

5.2 Resultados

Como resultado de los experimentos de mapeo de epítope, los epítopes podrían ser identificados a través de la inclusión del residuo de aminoácidos fosforilados requeridos (referirse a la Tabla 9) al que los anticuerpos divulgados en la presente se unen específicamente.

- Tau aa 15–20, con un requerimiento de pY18 (6C10F9C12A11; 6C10E5E9C12)
- Tau aa 405–412, con un requerimiento de pS409 (6H1A11C11; 6H1G6E6)
- Tau aa 405–411, con un requerimiento de pS409 (2B6A10C11; 2B6G7A12; 3A8A12G7; 3A8E12H8)
- Tau aa 208–218, con un requerimiento de pT212 y pS214 (7C2(1)F10C10D3)
- Tau aa 393–401, con un requerimiento de pS396 (A4–2A1–18; A4–2A1–40)
- Tau aa 396–401, con un requerimiento de pS396 (A4–4A6–18)
- Tau aa 394–400, con un requerimiento de pS396 (A6–1D2–12)

- Tau aa 402–406, con un requerimiento de pS404 (A6–2G5–08)
- Tau aa 393–400, con un requerimiento de p396 (A6–2G5–30; A6–2G5–41)

Ejemplo 6: Inmunización pasiva de unas semana de ratones transgénicos tau

6.1. Métodos

Para todos los estudios *in vivo*, se usaron ratones transgénicos tau a los que se les administró el tratamiento de anticuerpos de acuerdo con lo mostrado en la Tabla que aparece a continuación.

Ratones transgénicos y anticuerpos usados para estudios *in vivo*

N.º de estudio	Modelo transgénico tau	Edad del ratón al inicio del estudio (en meses)	Duración del estudio (en semanas)	Anticuerpos administrados	Dosis (mg/kg)	Cantidad de administraciones i.p.	Lectura
1	TMHT ($hTau^{V337M/R406W}$)	6.3	1	ACI–36–2B6–Ab1	0*, 3 o 10	2	MSD, IHC, WB
				ACI–36–3A8–Ab1	0 o 3		
2	TMHT ($hTau^{V337M/R406W}$)	4.2	4	ACI–36–2B6–Ab1 o ACI–36–3A8–Ab1	0,1 o 3	4	MSD, IHC, WB, MWM
3	TMHT ($hTau^{V337M/R406W}$)	3.0	12	ACI–36–2B6–Ab1 o ACI–36–3A8–Ab1	0,1 o 3	13	MSD, IHC, WB, MWM
4	biGT ($hTau^{P301L}$ x hGSK3β)	4.5	12	ACI–36–2B6–Ab1 o ACI–36–	0,1 o 3	13	WB

	3A8–Ab1	

*control del vehículo para todos los estudios; en forma intraperitoneal (i.p.)

6.1.1. Ratones y los tratamientos

Se usaron ratones Tg macho y hembra de 6,3 meses de edad (±3 días) de sobreexpresión de la isoforma TAU441 de tau humana de longitud completa, que soportan mutaciones de cambio de sentido V337M y R406W bajo el control de activador de murina Thy–1 (ratones TMHT), para el estudio N.º 1 (referirse a la Tabla que se encuentra más abajo). Los ratones fueron sometidos a eutanasia 1 día después de la última administración para determinar la patología tau en el cerebro.

6.1.2 Identificación y alojamiento del animal

En el transcurso de proceso para la genotipificación, a los animales se los numeró en forma consecutiva a través de la clásica marca en la oreja. Se volvió a determinar el genotipo de todos los animales antes del inicio del estudio. Los ratones fueron mantenidos de acuerdo con los procedimientos operativos estándar de JSW sobre la base de estándares internacionales. Se colocó a los animales en jaulas individuales ventiladas con una base para roedores estandarizada de Rettenmaier®. Se mantuvo la temperatura a alrededor de 24 °C y la humedad relativa fue mantenida entre 40% y 70%. Los animales fueron alojados según un ciclo de luz constante (12 horas de luz/oscuridad). Los animales disponían *ad libitum* de agua corriente normal y alimento para roedores estándar, seco, pelletizado (Altromin®). Se comprobaban los signos clínicos en forma regular a cada uno de los animales y se tomaba nota en una planilla individual de cada animal.

6.1.3. Sangrados in vivo

Transcurridos siete días desde la primera inmunización, se provocaban sangrados *in vivo* por muestreo mandibular de la vena/arteria facial. Las muestras de sangre son una combinación de sangre venosa y arterial. Para obtener el plasma, se reunía sangre en tubos de heparina y se los centrifugaba (1000 x g, 10 minutos, temperatura ambiente). Se congelaba el plasma en dos alícuotas hasta su uso.

6.1.4. Análisis cuantitativo inmunohistoquímico (IHC)

Se analizaron los hemisferios de todos los cerebros criocongelados. Se cortaron en forma longitudinal 15 criosecciones por nivel (5 niveles en total), cada una de 10µm de espesor (Leica CM 3050S). Se eligieron los niveles cerebrales de acuerdo con el atlas morfológico sobre el cerebro del ratón de Paxinos y Frankin (2da edición). El corte de los

cinco niveles comenzó con un corte aleatorio y el posterior muestreo continuo de manera uniforme y sistemática, siempre manteniendo 15 cortes por nivel en series y descartando 150 µm entre los niveles.

Para determinar la patología tau en el hipocampo y las amígdalas, se sometieron a tinción 5 cortes (1 de cada nivel) por región cerebral y animal mediante el uso de anticuerpos AT180 (N.° MN1040, Thermo Scientific) y HT7 (N.° MN1000, Thermo Scientific). Se visualizaron los anticuerpos primarios por el anticuerpo secundario acoplado a Cy–3 (Jackson Laboratories) y con posterioridad, se evaluó el área inmunoactiva mediante el uso de software Image Pro Plus (versión 6.2).

Se midieron objetos inmunoactivos sobre una restricción de tamaño (30 μm^2 en las amígdalas, 7 μm^2 en el hipocampo) y sobre un umbral de intensidad dinámico. Se registró en forma automática el área total y la intensidad total de los objetos y el umbral individual. De usarse, se definió el umbral dinámico como la "intensidad media dentro del AOI más la cantidad de veces del factor de la desviación estándar de intensidades de píxeles dentro del AOI". En cualquiera de los casos, los valores debían exceder un umbral mínimo establecido. Los niveles exactos del umbral son dados en la tabla siguiente.

Umbrales	Valor mínimo	Factor dinámico
Amígdala AT180	25	2
Hipocampo AT180	28	–
Amígdala HT7	35	2
Hipocampo HT7	25	0.5

El tamaño de la región fue medido por delineación manual del hipocampo y de la amígdala. Se normalizaron los datos del área HT7 y AT180 IR al tamaño de las regiones. Los datos relacionados con todos los IHC con $n > 4$ siguieron una distribución gaussiana de acuerdo con la prueba de normalidad de Kolmogorov Smirnov y son representados como media + SEM. Para el grupo vehículo que consiste en cuatro animales solamente, por lo que resultan demasiado pocos para una prueba de normalidad, se dio por supuesta la distribución gaussiana. Se calcularon diferencias de grupo mediante ANOVA paramétrica de un sentido seguida de una prueba *post hoc* de Newman Keuls, calculada con software GraphPadPrism. El nivel de error alfa fue establecido en 0,05.

Se determinó la patología tau del cerebro en el hipocampo y en la amígdala mediante un análisis cuantitativo inmunohistoquímico (IHC) a través del uso de anticuerpos AT180 (anti–ptau) y HT7 (anti–tau). Además, los efectos del tratamiento

sobre tau y p–tau soluble en la corteza y en el hipocampo fueron medidos en la fracción homogénea soluble mediante el uso de tecnología doble MesoScale Discovery (MSD), que sondea p–tau y tau total.

Ninguno de los anticuerpo usado para el ensayo de IHC o el de MSD cuentan con un epítope que se superponga con los dos anticuerpos del tratamiento usados en este estudio.

6.1.5. Generación de la fracción para el análisis cuantitativo del nivel de proteína tau soluble en las fracciones cerebrales solubles de ratones Tg

Los ratones tratados de acuerdo con el método 6.1.1 fueron sometidos a eutanasia 1 día después de la segunda administración para determinar la patología tau en el cerebro. En resumen, se homogeneizaron muestras de corteza solubles de un hemisferio cerebral en 100 a 200 µL de tampón de extracción en frío (25 mM Tris–HCl pH=7,4, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 10 mM β–glicerofosfato, 30 mM NaF, 2 mM Na_3VO_4, cóctel inhibidor de proteasa y fosfatasa). Se centrifugaron los homogenatos (74.200 x g durante 15 minutos a una temperatura de 4 °C) y se usaron los sobrenadantes para el análisis de tau soluble. Se determinó la concentración de proteína total en las fracciones solubles de muestras de corteza mediante un ensayo de cuantificación de proteína BCA (Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL, EE. UU.).

6.1.6. Análisis de la presencia de p–tau por transferencia Western

Para investigar la inmunorreactividad de los cerebros de ratones a los que se les administró ACI–36–2B6–Ab2 y ACI–36–3A8–Ab2, se usaron dos anticuerpos que, según los informes, unen epítopes de PHF p–tau (Greenberg et al., 1992; Reig et al., 1995; Hoffmann et al., 1997) en ensayos de transferencia Western (WB).

Se diluyeron fracciones solubles de la corteza mediante el agregado de un volumen igual de tampón de muestra A (125 mM Tris/HCl pH 6,8, 4% (p/v) sulfato de dodecilo de sodio (SDS), 20% glicerol, 0,01% azul bromofenol y 5% beta–mercapto–etanol), y luego se llevaron las muestras a una temperatura de 95 °C durante 10 minutos. Se cargaron 30 µg de muestra en un gel Bis–Tris de 4–12% (Invitrogen, Basel, Suiza) y se corrió el tampón de SDS MOPS (Invitrogen). Las proteínas fueron transferidas a una membrana de PVDF de 0,45 µm en un tampón de transferencia (25 mM Tris pH 8,6, 190 mM glicina, 20% metanol). Para verificar la transferencia de proteína, se sometieron a tinción las membranas con Ponceau S durante 5 minutos, se las lavó y bloqueó durante 1 hora en tampón de bloqueo (BSA al 5% en TBS [50 mM Tris–HCl, pH 7,6, 150 mM NaCl]). Se transfirieron las membranas durante la noche a 4 °C con los anticuerpos primarios en tampón de bloqueo y Tween al 0,1%. Los dos anticuerpos primarios de PHF

específico p–tau usados para las WBs fueron: anti–pS396 (PHF–13 epítope; AbCam, Cambridge, Reino Unido; usado en 3 µg/mL), específico de Ser396 (pS396) fosforilado de p–tau de murina humana (Hoffmann et al., 1997), y AD2 (PHF–1 epítope; BioRad, Reinach, Suiza; usado en 0,4 µg/mL), específico para murina pS396 y humana y Ser404 fosforilado (pS404; Reig et al., 1995). Para WBs de tau totales, Tau5 (0,5 µg/mL), se usó un anticuerpo que liga tau humana y murina (BD Biosciences, Allschwil, Suiza). Después de la incubación con el anticuerpo primario, se lavaron las membranas con Tween al 0,1% en TBS, y se las incubó con los anticuerpos secundarios: antirratón de cabra–IEDye 800 o anticonejo de cabra IRDye 680 (ambos de Li–Cor Biosciences, NE, EE. UU.) ambos diluidos en 1:15.000 en BB y Tween al 0,1%. Luego, se incubaron las membranas durante 1 hora a temperatura ambiente protegidas de la luz, se las lavó durante 15 minutos 3 veces con Tween al 0,1% en TBS, y durante 5 minutos 2 veces con TBS, y se cuantificaron las bandas mediante el uso del sistema por imágenes infrarrojas cercanas Odyssey de Li–Cor (Li–Cor). Las bandas fueron normalizadas a la expresión de beta–actina (AbCam; que se usó a 0,4 µg/mL). Para verificar la identificación de las bandas transgénicas humanas en comparación con las tau endógenas de ratón, se investigaron las transferencias con un anticuerpo específico para tau total humana (Tau13, AbCam; que no se muestran). En forma adicional, se investigaron las membranas con un anticuerpo primario antirratón, para verificar que los anticuerpos del tratamiento, ACI–36–2B6–Ab2 y ACI–36–3A8–Ab2, no estuvieran presentes en las muestras de las pruebas desnaturalizadas en una cantidad suficiente como para que interfieran en la unión de anti–pS396 o AD2. No se detectaron anticuerpos del tratamiento intactos o desnaturalizados (cuyos resultados no se muestran) en las muestras usadas para este estudio.

6.1.7. Análisis estadístico

Se analizaron los datos mediante el uso de estadísticas de suma de rangos de Kruskal–Wallis, y de ser significativo a un nivel de $P < 0.05$, se usó la prueba *post hoc* de Dunn que compara todos los grupos (GraphPad Prism, GraphPad Software, CA, EE. UU.). Los resultados son presentados como puntos de datos individuales que muestran una media ± SEM. Se consideraron las diferencias con $P < 0,05$ como significativas desde el punto de vista estadístico.

6.2 Resultados

6.2.1. Patología tau cerebral por análisis cuantitativo inmunohistoquímico (IHC)

Dos inyecciones i.p. de ACI–36–2B6–Ab2 y ACI–36–3A8–Ab2 no mostraron ningún efecto colateral importante durante el periodo del estudio. La tinción para pT231 y

pS235 mediante el uso de AT180 por IHC mostró una mayor área inmunorreactiva (IR) en la amígdala después del tratamiento con ACI–36–3A8–Ab2. Los ratones tratados con 3 mg/kg de ACI–36–2B6–Ab2 presentaban un área IR de AT 180 significativamente menor en el hipocampo.

El tratamiento con ACI–36–3A8–AB2 aumentó p–tau de IR con AT 180 en comparación con el grupo PBS en la amígdala. En el hipocampo, el tratamiento con ACI–36–2B6–AB2 redujo la p–tau. AT 180 etiqueta específicamente p–tau. La frecuencia de células IR de AT 180 fue reducida en los ratones tratados con ACI–36–2B6–AB2. Este efecto fue mayor en el grupo de dosis baja (3 mg/kg) (ACI–36–2B6–AB2 LD). El patrón de tinción somal no difiere entre los grupos.

A mayores dosis de 10 mg/kg, se observó una tendencia no significativa para menos IR de AT 180 en el hipocampo tanto para ACI–36–2B6–Ab2 como para ACI–36–3A8–Ab2, cuando se lo comparó con los ratones tratados con el vehículo control. En forma cualitativa, los animales tratados con ACI–36–2B6–Ab2 mostraron una cantidad menor de neuronas hipocampales con un etiquetado de AT180 muy intenso.

6.2.2. Reducción del nivel de tau total en la fracción cerebral posterior a la inmunización pasiva

El efecto de los tratamientos en p–tau y tau en la fracción cerebral que contiene proteínas solubles fue medido mediante el uso de un ensayo doble de MSD. Los niveles de TAU soluble total en la corteza se vieron muy reducidos en los ratones tratados con ACI–36–2B6–Ab2 y ACI–36–3A8–Ab2 ($p<0.01$; Figura 3, panel superior). Los niveles de Piau soluble también se vieron muy reducidos ($p < 0.05$; Figura 3, panel inferior), donde la dosis de 3 mg/kg de ACI–36–2B6–Ab2 demuestra la gran reducción ($p < 0.01$). La relación entre Piau y TAU total permaneció sin cambios. Los niveles de TAU soluble y pTAU no cambiaron en las muestras del hipocampo (que no se muestran aquí).

6.2.3. Efectos de la administración de ACI–36–2B6–Ab2 y ACI–36–3A8–Ab2 en la presencia de epítopes fosfo–tau que se encuentran en filamentos helicoidales pareados (PHFs)

En un sentido estructural, los ovillos neurofibrilares (NFTs) consiste en filamentos helicoidales pareados (PHFs) compuestos por la proteína tau asociada a microtúbulos, que se encuentra principalmente en un estado hiperfosforilado (Alonso et al., 1997). El objetivo de este estudio fue el de usar anticuerpos que reconocen PHF de pTau para investigar y cuantificar estos epítopes de PHF de pTau en los cerebros de ratones transgénicos Tau, después de la administración de ACI–36–2B6–Ab2 y ACI–36–3A8–Ab2.

Para medir los efectos de dos administraciones de ACI–36–2B6–Ab2 o ACI–36–3A8–Ab2 en la cantidad de fosfo epítopes de PHF Tau bien documentada, se investigaron fracciones solubles de corteza cerebral de ratones tratados Tg Tau con AD2 (epítope PHF–1, pS396/pS404) y anticuerpo anti–pS396 (epítope PHF–13, pS396) mediante el uso de WBs. Se cuantificó la inmunorreactividad mediante el uso de un sistema por imágenes infrarrojas. Los efectos del tratamiento de ACI–36–3A8–AB2 y ACI–36–2B6–AB2 en la inmunorreactividad de PHF de AD2 en la corteza de ratones Tg Tau fueron determinados a través de AD2 que estudia pS396 y pS404, dos residuos fosfo de PHF de Tau documentados con anterioridad (Greenberg et al., 1992; Reig et al., 1995).

Se cuantificaron las bandas, lo que indica pTau humana y de ratón fosforilada en S396 y S404 mediante el uso del anticuerpo AD2 (PHF–1), a través del uso de un sistema por imágenes infrarrojas de Li–Cor. Se determinaron los valore para cada uno de los ratones así como también la media ± SEM.

Se observó una tendencia no significativa para una reducción en la inmunorreactividad de pTau de AD–2 positivo para la banda de pTau humana transgénica. No obstante, se observó una reducción significativa en la cantidad de pTau de AD2 positiva de ratón en los ratones tratados con 3 mg/kg de ACI–36–2B6–Ab2 y una tendencia no significativa cuando se los trató con 10 mg/kg de ACI–36–2B6–Ab2 o ACI–36–3A8–Ab2.

Cuando se usó un anticuerpo diferente que reconoce específicamente pTau pS396 para realización una tinción (Hoffmann et al., 1997), se observó un efecto incluso mayor. Los ratones tratados con 3 mg/kg de ACI–36–2B6–Ab2 presentaban pTau endógena de ratón y humana de pS396 positiva menos significativa, con una tendencia hacia la reducción cuando son tratados con 10 mg/kg de ACI–36–2B6–Ab2 o ACI–36–3A8–Ab2. Para evaluar los efectos en Tau total de ratón y humana, que incluye tanto pTau total y fosforilada, se verificaron las transferencias con el anticuerpo Tau5. En comparación con el vehículo control, no se moduló Tau total por ACI–36–2B6–Ab2 o ACI–36–3A8–Ab2 administrado en 10 mg/kg, sin embargo, se observó una tendencia para Tau total reducida para ACI–36–2B6–Ab2 administrado de ratón en 3 mg/kg.

6.2.4 Resumen

Dos administraciones periféricas de Tau Tg de ratón con el anticuerpo ACI–36–3A8–Ab2 anti–pTAU redujeron en forma significativa TAU soluble y pTAU soluble en la corteza cerebral. Dos administraciones periféricas de Tau Tg de ratón con el anticuerpo ACI–36–2B6–Ab2 anti–pTAU redujeron en forma significativa TAU soluble y pTAU

soluble en la corteza cerebral. En forma adicional, en el hipocampo, el ACI–36–2B6–AB2 redujo en forma significativa la inmunorreactivida de pTAU. Estos resultados demuestran la capacidad de inmunización anti–pTAU pasiva mediante el uso de anticuerpos ACI–36–2B6–Ab2 y ACI–36–3A8–Ab2 para reducir la tauopatía.

Dos administraciones periféricas de ACI–36–2B6–Ab2 en 3 mg/kg a ratones Tg Tau redujeron la presencia de epítopes de PHF pTau en la corteza de acuerdo con lo medido por transferencia Western. A una dosis mayor de 10 mg/kg, tanto ACI–36–2B6–Ab2 como ACI–36–3A8–Ab2 demostraron una tendencia reducida a la inmunorreactividad de epítope de PHF de pTau. Estos resultados muestran que los anticuerpos ACI–36–2B6–Ab2 y ACI–36–3A8–Ab2 pueden ser usados en forma adecuada en inmunoterapia pasiva contra tauopatías tales como la enfermedad de Alzheimer.

Ejemplo 7: Tratamiento de 1 mes en ratones que sobreexpresan Tau humana

7.1 Métodos

7.1.1 Ratones y los tratamientos

Se usaron ratones transgénicos tau a los que se les administró el tratamiento de anticuerpos de acuerdo con lo mostrado en la Tabla en el Método 6.1. (Estudio N.º 2.)

7.1.2. Prueba de comportamiento: tarea de laberinto de agua de Morris (MWM)

Después de la última administración, se llevó a cabo la tarea de laberinto de agua (MWM) para evaluar el rendimiento de la memoria espacial en ratones tratados de acuerdo con el 6.1.1. La prueba de MWM fue llevada a cabo con todos animales enjaulados en 4 semanas después del inicio. La MWM consiste en un recipiente circular blanco con un diámetro de 100 cm, lleno de agua corriente a una temperatura de 21±2 °C. El recipiente está virtualmente dividido en cuatro sectores. Se coloca una plataforma transparente (de 8 cm de diámetro) de alrededor de 0,5 cm por debajo del nivel del agua. Durante todas las sesiones de la prueba, la plataforma es ubicada en el cuadrante sudoeste del recipiente. Cada ratón debe realizar tres intentos en cada uno de los cuatro días consecutivos. Un solo intento duró un máximo de un minuto. Durante ese tiempo, el ratón tuvo la oportunidad de encontrar el objetivo diáfano oculto. Después de cada intento, se dejó descansar a los ratones sobre la plataforma durante 10–15 segundos para que se orienten en los alrededores. Al menos una hora después del último intento en el día 4, los ratones debieron completar una prueba de sondeo (PT). Durante la PT, se retiró la plataforma del recipiente y la persona a cargo del experimento registró la cantidad de veces que cada ratón cruzó sobre la posición objetivo anterior junto con la permanencia en este cuadrante. Para la cuantificación de la latencia de escape (el tiempo

[en segundos] que necesitó el ratón para encontrar la plataforma oculta y por lo tanto, escapar del agua), del camino (la longitud de la trayectoria [en metros] para alcanzar el objetivo), de los cruces de la zona objetivo y de la permanencia en el cuadrante objetivo en la PT, se usó un sistema de seguimiento computarizado (Biobserve Software). Todos los animales debían realizar una prueba visual después de la PT en el último día para eliminar la influencia de capacidades visuales insuficientes en los resultados de comportamiento.

7.1.3. Determinación de la patología tau cerebral por análisis cuantitativo inmunohistoquímico (IHC)

Los ratones fueron sometidos a eutanasia 1 día después de la prueba de MWM (1 semana después de la última administración) para determinar la patología Tau en el cerebro. Se determinó la patología Tau del cerebro en el hipocampo y en la amígdala mediante un análisis cuantitativo inmunohistoquímico (IHC) a través del uso de anticuerpos AT180 (anti–pTau, pT231/pS235) y HT7 (anti–Tau específico de humano). Además, los efectos del tratamiento sobre Tau y pTau soluble en la corteza y en el hipocampo fueron medidos en la fracción homogénea mediante el uso de tecnología doble MesoScale Discovery (MSD), que sondea pTau (pT231) y Tau total. Ninguno de los anticuerpos usados para el ensayo de IHC o el de MSD cuentan con un epítope que se superponga con el anticuerpo del tratamiento usado en este estudio.

7.1.4. Preparación de la muestra para el análisis de Tau soluble en la corteza y en el hipocampo

Los ratones fueron sometidos a eutanasia durante la recolección de tejido, una semana después de la última administración del tratamiento. Se homogeneizaron la corteza y el hipocampo en 100 a 200 µL de tampón de extracción en frío 1 (25 mM Tris–HCl pH=7,4, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 10 mM ß–glicerofosfato, 30 mM NaF, 2 mM Na_3VO_4, cóctel de inhibidor de proteasa y fosfatasa). Se centrifugaron los homogenatos (74.200 x g durante 15 minutos a una temperatura de 4 °C) y se usaron los sobrenadantes para el análisis de Tau soluble en la corteza y en el hipocampo (Figura 4). Se volvieron al suspender los gránulos en 100–200 µL de tampón de extracción 2 (10 mM Tris HCl pH=7,4, 800 mM NaCl, 300 mM sacarosa, 1 mM de EGTA, cócteles de inhibidores de fosfatasa y proteasa) y los transfirió a un tubo de 1,5 mL. Se centrifugaron las soluciones 4.000 g durante 20 minutos a una temperatura de 4 °C) y se transfirieron los sobrenadantes a tubos de ultracentrifugación. Luego, se agregó sarcosilo (una solución acuosa al 30%) a la concentración final de 1% y se la incubó durante 1,5 horas a temperatura ambiente. Después de la centrifugación (74.200 g durante 30 minutos a una

temperatura de 4 °C) se descartaron los sobrenadantes y se volvieron a suspender los gránulos en 100 µL de tampón 3 (50 mM Tris–HCl, pH=7,4). Se usaron los gránulos vueltos a suspender como Tau insoluble en sarcosilo (SinT) en la corteza y en el hipocampo. Se determinó la concentración de proteína total en las muestras de fracciones solubles y SinT mediante un ensayo de cuantificación de proteína BCA (Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL., EE. UU.).

7.1.5. Transferencia Western para Tau y PHF pTau

Para investigar el efecto de la administración de ACI–36–2B6–Ab1 en presencia de PHF pTau en la corteza cerebral y en el hipocampo, se informó que dos anticuerpos unen epítopes de PHF pTau (Greenberg et al., 1992; Reig et al., 1995; Hoffmann et al., 1997) en ensayos de transferencia Western (WB). Las fracciones solubles y SinT de la corteza y del hipocampo fueron diluidas mediante el agregado de un volumen igual del tampón de muestra A (125 mM Tris/HCl pH 6,8, 4% (p/v) sulfato de dodecilo de sodio (SDS), 20% glicerol, 0,01% azul bromofenol y 5% beta–mercapto–etanol), y luego se llevaron las muestras a una temperatura de 95 °C durante 10 minutos. Se cargaron 30 µg de muestra en un gel Bis–Tris de 4–12% (Invitrogen, Basel, Suiza) y se corrió el tampón de SDS MOPS (Invitrogen). Las proteínas fueron transferidas a una membrana de PVDF de 0,45 µm en un tampón de transferencia (25 mM Tris pH 8,6, 190 mM glicina, 20% metanol). Para verificar la transferencia de proteína, se sometieron a tinción las membranas con Ponceau S durante 5 minutos, luego se las lavó y bloqueó durante 1 hora en tampón de bloqueo (BSA al 5% en TBS [50 mM Tris–HCl, pH 7,6, 150 mM NaCl]). Se transfirieron las membranas durante la noche a 4 °C con los anticuerpos primarios en tampón de bloqueo y Tween al 0,1%.

Los dos anticuerpos primarios de PHF específico p–tau usados para las WBs fueron: anti–pS396 (PHF–13 epítope; AbCam, Cambridge, Reino Unido; usado en 3 µg/mL), específico de Ser396 (pS396) fosforilado de p–tau de murina humana (Hoffmann et al., 1997), y AD2 (PHF–1 epítope; BioRad, Reinach, Suiza; usado en 0,4 µg/mL), específico para murina pS396 y humana y Ser404 fosforilado (pS404; Reig et al., 1995). Para investigar el efecto de la administración de ACI–36–2B6–Ab1 en presencia de PHF pTau en la corteza cerebral y en el hipocampo, se informó que dos anticuerpos unen epítopes de PHF pTau en ensayos de transferencia Western (WB). Para WBs de Tau totales, Tau5, se usó un anticuerpo que liga Tau humana y murina (BD Biosciences, Allschwil, Suiza) a 0,5 µg/mL. Se transfirieron todas las membranas en forma adicional para que se normalizara la beta–actina (AbCam; usada a 0,4 µg/mL) para la carga de proteína.

Después de la incubación con el anticuerpo primario, se lavaron las membranas con Tween al 0,1% en TBS, y se las incubó con los anticuerpos secundarios: antirratón de cabra–IRDye 800 o anticonejo de cabra IRDye 680 (ambos de Li–Cor Biosciences, NE, EE. UU.) ambos diluidos en 1:15.000 en BB y Tween al 0,1%. Luego, se incubaron las membranas durante 1 hora a temperatura ambiente protegidas de la luz, se las lavó durante 15 minutos 3 veces con Tween al 0,1% en TBS, y durante 5 minutos 2 veces con TBS, y se cuantificaron las bandas mediante el uso del sistema por imágenes infrarrojas cercanas Odyssey de Li–Cor (Li–Cor). Las bandas de interés fueron normalizadas en expresión de beta–actina. Para verificar la identificación de las bandas transgénicas humanas en comparación con las Tau endógenas de ratón, se investigaron las transferencias con un anticuerpo específico para Tau total humana sin la reacción cruzada con murina (Tau13, AbCam; que no se muestran). En forma adicional, se investigaron las membranas con un anticuerpo primario antirratón, para verificar que los anticuerpos del tratamiento no estuvieran presentes en las muestras de las pruebas desnaturalizadas en una cantidad suficiente como para que interfieran en la unión de los anticuerpos de transferencia primarios. No se detectaron anticuerpos del tratamiento intactos o desnaturalizados (cuyos resultados no se muestran) en las muestras usadas para este estudio. Los valores son expresados como inmunorreactividad (IR) corregida por beta–actina.

7.1.6. Análisis estadístico

Se analizaron los datos mediante el uso de ANOVA de un sentido seguido de una prueba *post hoc* de comparación múltiple de Dunnett (GraphPad Prism, GraphPad Software, CA, EE.UU.) que compara cada tratamiento con ratones tratados con Tg control. Los resultados son presentados como puntos de datos individuales que muestran una media ± SEM. Se consideraron las diferencias con $p < 0,05$ como significativas desde el punto de vista estadístico. No se incluyeron los valores simples que fueron identificados como valores atípicos significativos ($p < 0,5$) por test t de Student de desvío extremo.

7.2 Resultados

7.2.1. Prueba de comportamiento: tarea de laberinto de agua de Morris (MWM) después de la inmunización pasiva

Las cuatro inyecciones i.p. de ACI–36–2B6–Ab1 administradas en forma semanal a 3 mg/kg o 1 mg/kg durante un período de cuatro semanas no mostraron ningún efecto adverso grave.

Durante la última semana del tratamiento, se evaluó el aprendizaje de navegación espacial y la memoria de los animales. Los animales debían completar un entrenamiento de 4 días con 5 intentos por día seguido de una prueba de sondeo y una prueba visual. Se evaluó la latencia de escape (el tiempo [en segundos] que necesitó el ratón para encontrar la plataforma oculta y por lo tanto, escapar del agua), el camino (la longitud de la trayectoria [en metros] para alcanzar el objetivo), la velocidad de nado (coeficiente calculado del camino y la latencia de escape), y la cantidad de cruces objetivo y la permanencia en el cuadrante objetivo

Los animales Tg (el grupo A) así como también los animales de control nTg (F) tratados con el vehículo mostraron las curvas de aprendizaje esperadas cuando se evaluó la latencia de escape y la longitud de la trayectoria del nado para alcanzar la plataforma durante los cuatro días de prueba. Los animales de control Tg (A) contaban con una deficiencia significativa en el aprendizaje de acuerdo con lo mostrado por las curvas de aprendizaje más planas en latencias de escape y las trayectorias del nado en comparación con animales de control nTg (F). Las latencias de escape y las trayectorias del nado fueron significativamente más largas (ANOVA de dos días) en los días 3 y 4 del entrenamiento ($p < 0,001$; prueba posterior de Bonferroni). El tratamiento con ACI–36–2B6–Ab1 y ACI–36–3A8–Ab1, de dosis alta o baja (grupos B y C y D y E, respectivamente) no condujeron a una mejora significativa de las capacidades de aprendizaje espacial en comparación con los animales control Tg (grupo A) y demostraron curvas de aprendizaje similares. Al ajustar el rendimiento del día 1 de cada grupo en 100% y todos los demás días como porcentaje del día 1, puede observarse una mejora para los ratones tratados con ACI–36–3A8–Ab1 (ambas dosis). El efecto alcanzó una importancia estadística para la longitud de la trayectoria del nado en el día 3 ($p < 0,01$ en el grupo D y $p < 0,05$ en el grupo E) y en el día 4 ($p < 0,05$ en el grupo D).

Para los ratones tratados con ACI–36–2B6–Ab1 (ambas dosis), puede observarse una ligera mejoría en la longitud de la trayectoria del nado, aunque sin importancia estadística.

No se detectaron diferencias entre grupos de tratamiento en términos de velocidad de nado en los cuatro días de entrenamiento.

Los resultados de la prueba de MWM demostraron tendencias hacia un aprendizaje espacial mejorado para los ratones tratados con ACI–36–2B6–Ab1 y ACI–36–3A8–Ab1.

7.2.2. Patología Tau cerebral por análisis cuantitativo inmunohistoquímico (IHC)

El anticuerpo AT180 produce una tinción en pTAU humana y endógena (doblemente fosforilado en Thr231 y Ser235).

Se determinó IR de AT180 en la amígdala y en el hipocampo después de inmunización con ACI–36–2B6–AB1 y ACI–36–3A8–AB1. Se midió el porcentaje del área de IR de AT180 en la amígdala y en el hipocampo.

La cantidad de PTAU intrasomal en los controles de nTg fue significativamente menor en comparación con los grupos Tg ($p < 0,001$). En la amígdala, se observó una tendencia a aumentar pTAU somal para el tratamiento de ACI–36–2B6–Ab1 de 3 mg/kg. Por el contrario, ambas dosis de ACI–36–2B6–Ab1 tendieron a reducir pTAU en comparación con los animales tratados con el vehículo en el hipocampo. Las intensidades de tinción media fueron comparables en todos los grupos transgénicos.

El tratamiento ACI–36–3A8–Ab1 con no alteró pTAU somal en el hipocampo y en la amígdala y los niveles de pTAU neuronales en la amígdala y en el hipocampo no difirieron significativamente entre grupos transgénicos tratados. La suma de las intensidades de tinción y la media fueron comparables en todos los grupos transgénicos.

Dado que el anticuerpo HT7 es específico para TAU humana, solo se midió una pequeña señal en controles nTg, que deriva de la autofluorescencia de los puntos de lipofuscina que superan los siete píxeles de tamaño. El tratamiento de ACI–36–2B6–Ab1 no alteró el área de IR positiva de HT7 somal en el hipocampo en comparación con el vehículo control (PBS). En la amígdala, los ratones que recibieron la dosis menos de ACI–36–2B6–Ab1 tendieron a presentar mayores niveles de TAU humana total (prueba T: $p = 0,0954$) en términos del área de IR. Asimismo, este aumento fue visible en términos cualitativos como un aumento del área de tinción y la intensidad de tinción en los somas neuronales individuales. No se observaron diferencias inducidas por el tratamiento que fueran significativas desde el punto de vista estadístico en las neuronas del hipocampo.

El tratamiento de ACI–36–3A8–Ab1 no alteró en forma significativa el área de IR positiva de HT7 somal en la amígdala y el hipocampo en comparación con el vehículo control (PBS). La suma de las intensidades de tinción y la media fueron comparables en todos los grupos transgénicos (los datos no se muestran).

La patología Tau cerebral no mostró ningún cambio en los niveles de Tau total o pTau en la fracción soluble cerebral, no obstante, la inmunotinción de secciones cerebrales demostró una reducción en pTau del hipocampo en ratones tratados con ACI–36–2B6–Ab1.

7.2.3. Efectos de la administración de anticuerpo anti–Tau en epítopes fosfo–Tau presentes en filamentos helicoidales pareados (PHFs)

La enfermedad de Alzheimer (EA) se caracteriza desde el punto de vista neuropatológico, por ovillos neurofibrilares (NFTs, Braak, Braak & Bohl, 1993). En un sentido estructural, los NFTs consisten en filamentos helicoidales pareados (PHFs) compuestos por la proteína Tau asociada a microtúbulos, que se encuentra principalmente en un estado hiperfosforilado (Alonso et al., 1997). El objetivo de este estudio fue el de reducir estos epítopes de PHF de pTAu en los cerebros de ratones transgénicos Tau a través de cuatro administraciones del anticuerpo anti–pTau ACI–36–2B6–Ab2 y ACI–36–3A8–Ab2.

Para medir los efectos de cuatro administraciones de ACI–36–2B6–Ab2 en la cantidad de fosfo epítopes de PHF Tau bien documentada, se investigaron fracciones SinT y solubles de corteza cerebral y de hipocampo de ratones tratados Tg Tau con AD2 (epítope PHF–1, pS396/pS404) y anticuerpo anti–pS396 (epítope PHF–13, pS396) mediante el uso de WBs. Como marcadores de PHFs de Tau, la presencia de pS396/pS404 han sido previamente documentada (Greenberg et al., 1992; Reig et al., 1995) y en forma más específica, el sitio pS396 (Hoffmann et al., 1997). En los ratones Tg Tau, Tau es expresada como Tau de murina endógena y como el transgén de Tau humana, con una diferencia en peso molecular que puede ser claramente identificada en WBs cuando un anticuerpo de transferencia se une a Tau desde ambas especies y Tau desde dos transcripciones diferentes es expresada en cantidades suficientes. Por lo tanto, cuando es posible, las bandas de Tau transgénica humana y de ratón endógena son identificadas para cada anticuerpo de transcripción y son cuantificadas por separado. Para verificar los patrones de migración para estas bandas de Tau en nuestros ensayos de WB, se usó un anticuerpo anti–Tau que se une a Tau total, pero es específico humano (Tau13), y por lo tanto, solo muestra el transgén humano en cerebros Tg Tau para muestras de control Tg Tau para verificar patrones de migración para Tau de ratón y de humano en los ratones transgénicos de Tau. En forma adicional, se normalizaron todas las bandas cuantificadas con beta–actina.

La presencia de epítopes de PHF, investigadas en la fracción soluble de la corteza cerebral, fue reducida en los ratones tratados con ACI–36–2B6–Ab1 y in ACI–36–3A8–Ab1. Esto resultó significativo tanto para las bandas de ratón como para las humanas mediante el uso del anticuerpo pS396 (PHF–13) para las WBs (Figuras 5A y B).

Cuando se usó el anticuerpo AD2 (PHF–1, pS396/pS404) para WBs de extractos de ratones tratados con ACI–36–2B6–Ab1 y ACI–36–3A8–Ab1, se observo una significativa reducción (Figura 5C).

Debe destacarse que aunque los dos anticuerpos de PHF específico que son usados para estas WBs tienen epítopes similares y una buena especificidad respecto de sus objetivos fosforilados, el anticuerpo pS396 (PHF–13) parece tener una mejor relación entre señal y ruido y fue el mejor anticuerpo general para estas WBs.

El efecto objetivo directo del anticuerpo del tratamiento fue investigado en la corteza mediante el uso de ACI–36–2B6–Ab1 y ACI–36–2B6–Ab1, respectivamente, como el anticuerpo de transferencia. Este anticuerpo anti–pTau se une con el epítope fosfo–Tau como el anticuerpo del tratamiento usado en este estudio. Se han probado las transferencias con anterioridad con un solo anticuerpo IgG antirratón secundario.

Se cuantificó la transferencia mediante el uso de un sistema por imágenes infrarrojas. Se determinaron los valore para cada uno de los ratones así como también la media ± SEM.

No se detectó ninguna señal sobre la base, lo que verifica la falta de efectos de bloqueo o de interferencia por parte del anticuerpo del tratamiento en estas muestras (cuyos datos no se muestran).

En ratones tratados con ACI–36–2B6–Ab1, se observó una tendencia hacia una señal reducida al nivel de ratones nTg tratados control, lo que indica un efecto objetivo directo (Figura 5G). En ratones tratados con ACI–36–3A8–Ab1, no se observaron efectos significativos del tratamiento (Figura 5G).

El significativo efecto del tratamiento de ACI–36–2B6–Ab1 en Tau total en la corteza soluble de ratones Tg de Tau se observó a través del uso de un anticuerpo Tau5 para transferencia que une la Tau de ratón endógena y la Tau humana transgénica (Figuras 5H y 5I). Se observó una reducción significativa en Tau total para Tau de ratón engódena y para Tau humana transgénica en la fracción soluble de la corteza cerebral.

Las bandas, que indican la Tau total de ratón A) y humana B) (Tau5), fueron cuantificadas mediante el uso de un sistema por imágenes infrarrojas. Se determinaron los valores para cada uno de los ratones así como también la media ± SEM.

La presencia de epítopes de PHF en la fracción insoluble en detergente fue llevada a cabo por la preparación de fracciones de cerebro (SinT) insolubles en sarcosilo.

Se cuantificó la transferencia mediante el uso de un sistema por imágenes infrarrojas. Se determinaron los valore para cada uno de los ratones así como también la media ± SEM.

En esta fracción, estuvo presente mucha menos Tau cuando se la compara con la fracción Tau soluble tanto en la corteza como en el hipocampo. Esto puede deberse a la edad de los ratones Tg de Tau usado en este estudio, que a los 4 meses no pueden

haber acumulado una cantidad significativa de Tau agregada e insoluble en el hipotálamo y en la corteza Por lo tanto, cuando se investigan epítopes de PHF en la fracción SinT, solo el anticuerpo AD2 (PHF–1, pS396/pS404) proveyó una señal que resultó suficiente para la cuantificación confiable de las bandas.

Los ratones tratados con 1 mg/kg de ACI–36–2B6–Ab1 y con 1 mg/kg de ACI–36–3A8–Ab1, respectivamente, presentaron una reducción significativa en el epítope de PHF–1 en bandas que representan la Tau de ratón endógena (Figura 5C). Las señales observadas para la banda humana transgénica no fueron lo suficientemente intensas como para ser cuantificadas en forma confiable.

También se investigó el hipocampo, mediante el uso de los mismos anticuerpos y fracciones que para la corteza. Se detectaron señales más bajas para todos los anticuerpos de transferencia en fracciones del hipocampo en comparación con la corteza.

Se determinaron los efectos del tratamiento con ACI–36–2B6–AB1 y ACI–36–3A8–AB1 en la inmunorreactividad de pS396 (PHF–13) en el hipocampo soluble de ratones Tg de Tau. Las bandas, que indican los epítopes de pTau de ratón A) y humana B) pS396 (PHF–13) fueron cuantificadas mediante el uso de un sistema por imágenes infrarrojas. Se determinaron los valores para cada uno de los ratones así como también la media ± SEM.

El tratamiento con ACI–36–2B6–Ab1 no alteró en forma significativa la presencia del epítope pS396 (PHF–13) en la fracción de hipocampo soluble de Tau de ratón, con una pequeña tendencia a una reducción en la banda de transgén humano.

El tratamiento con ACI–36–3A8–Ab1 mostró tendencias a una reducción en presencia del epítope pS396 (PHF–13) en la fracción de hipocampo soluble de Tau de ratón y la banda de transgén humano.

De forma similar a lo que se observó para WBs de pS396 (PHF–13), se detectó una tendencia para una señal reducida en ambos extractos de ratones tratados con ACI–36–2B6–Ab1 y ACI–36–3A8–Ab1 para Tau total en la fracción de hipocampo soluble de Tau humana.

De forma similar a las muestras SinT de la corteza, la fracción SinT del hipocampo presentaba muy bajos niveles de pTau. Los ratones tratados con ACI–36–2B6–Ab1 y ACI–36–3A8–Ab1, respectivamente, no presentaron ningún cambio en el epítope de PHF–1 (pS396/pS404) en bandas que representan la Tau de ratón endógena. Las señales observadas para la banda humana transgénica no fueron lo suficientemente intensas como para ser cuantificadas en forma confiable.

7.2.4 Resumen

El estudio indica que la inmunización pasiva mediante el uso de cuatro administraciones de los anticuerpos anti–pTau de fosfosita específica ACI–36–2B6–Ab1 y ACI–36–3A8–Ab1 mejora el aprendizaje espacial y reduce la patología pTau cerebral.

Cuatro administraciones periféricas de anticuerpo anti–pTau ACI–36–2B6–Ab1 en 1 y 3 mg/kg a ratones Tg Tau redujeron la presencia de epítopes de PHF pTau en la corteza de acuerdo con lo medido por transferencia Western. Se observó una tendencia a la reducción en el hipocampo. De forma similar, también se observó una reducción en la Tau total. Se observó una reducción significativa en la inmunorreactividad de PHF–1 de pTau en la fracción de corteza soluble, y también se observó una tendencia que indicó efectos objetivo directos del tratamiento con el anticuerpo. Estos resultados proveen un mayor sustento para los anticuerpos ACI–36–2B6–Ab1 y ACI–36–3A8–Ab1 en inmunoterapia pasiva contra tauopatías tales como la enfermedad de Alzheimer.

Ejemplo 8: Tratamiento de 3 meses en ratones que sobreexpresan Tau humana

8.1 Métodos

8.1.1 Ratones y los tratamientos

Se usaron ratones transgénicos tau a los que se les administró el tratamiento de anticuerpos de acuerdo con lo mostrado en la Tabla en el Método 6.1. (estudio N.° 3) y se asignaron ratones en cuatro grupos de tratamiento diferentes de acuerdo con lo descripto en la tabla a continuación.

Grupo	Cepa de ratón	Genotipo	Edad al comienzo	Género	N	Tratamiento		
A	TMHT	Tg	3 meses (±2 semanas)	mixto	15+1	PBS (control)	i.p. 10 µl/g b.w.	por semana
B	TMHT	Tg	3 meses (±2 semanas)	mixto	15+1	ACI–36–2B6–Ab1 (1 mg/kg)	i.p. 10 µl/g b.w.	por semana
C	TMHT	Tg	3 meses (±2 semanas)	mixto	15+1	ACI–36–2B6–Ab1 (3 mg/kg)	i.p. 10 µl/g b.w.	por semana
F	TMHT	nTg	3 meses (±2 semanas)	mixto	15+1	PBS (control)	i.p. 10 µl/g b.w.	por semana

Se trataron en total 45 ratones Tg más 3 reservas asignados a los grupos de tratamiento A a C y 15 ratones nTg más 1 reserva (grupo F) en el día 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 56, 63, 70, 77 y 84 por inyección i.p. de anticuerpo anti–pTAU o PBS (vehículo control), ACI–36–2B6–Ab1 o ACI–36–3A8–Ab1. Se dividieron en forma aleatoria los animales en 5 grupos de inicio diferentes (escalas) que comprenden animales de todos los grupos tratados. La cantidad de animales en una escala fue limitada para asegurar la misma edad y un manejo uniforme. Después de la duodécima administración, se llevó a cabo una tarea de laberinto de agua (MWM) para evaluar el rendimiento de la memoria espacial. Después de la MWM, se les administró a los ratones el artículo de prueba una vez más (inyección décimo tercera) antes de ser sometidos a eutanasia 24 horas más tarde de haber determinado la patología Tau. Se determinó la patología tau del cerebro en el hipocampo y en la amígdala mediante un análisis cuantitativo inmunohistoquímico (IHC) a través del uso del anticuerpo AT180 (anti–pTau, pT231/pS235). Además, los efectos del tratamiento sobre Tau y pTau soluble e insoluble en sarcosilo en la corteza y en el hipocampo fueron medidos mediante el uso de tecnología MesoScale Discovery (MSD), que sondea pTau (pT231 y pS396) y Tau total.

8.1.2. Prueba de comportamiento: tarea de laberinto de agua de Morris (MWM)

Este experimento fue llevado a cabo de acuerdo con el protocolo descripto en el Ejemplo 7.1.2. En la duodécima semana, se evaluó la navegación espacial con la prueba de laberinto de agua de Morris (MWM) para comprobar el aprendizaje y la memoria.

8.1.3. Biología molecular

Se cuantificó Tau total y Tau fosforilado en Thr 231 y en pS396 en homogenatos de cerebro de animales Tg mediante el uso de un ensayo inmunoabsorbente de MesoScale Discovery (MSD).

8.1.4. Determinación de la patología tau cerebral por análisis cuantitativo inmunohistoquímico (IHC)

Este experimento fue llevado a cabo de acuerdo con el protocolo descripto en el Ejemplo 7.1.3. Se determinó la patología TAU mediante la inmunorreactividad de AT180 en el hipocampo y en la amígdala de 8 animales por grupo.

8.1.5. Efectos de la administración de anticuerpo anti–Tau durante tres meses en epítopes fosfo–Tau presentes en filamentos helicoidales pareados (PHFs)

Este experimento fue llevado a cabo de acuerdo con los protocolos descriptos en 7.1.4., 7.1.5. y 7.1.6. Para medir los efectos de cuatro administraciones de ACI–36–2B6–Ab1 y ACI–36–3A8–Ab1 en la cantidad de fosfo epítopes de PHF Tau bien documentada, se investigaron fracciones SinT y solubles de corteza cerebral y de hipocampo de ratones

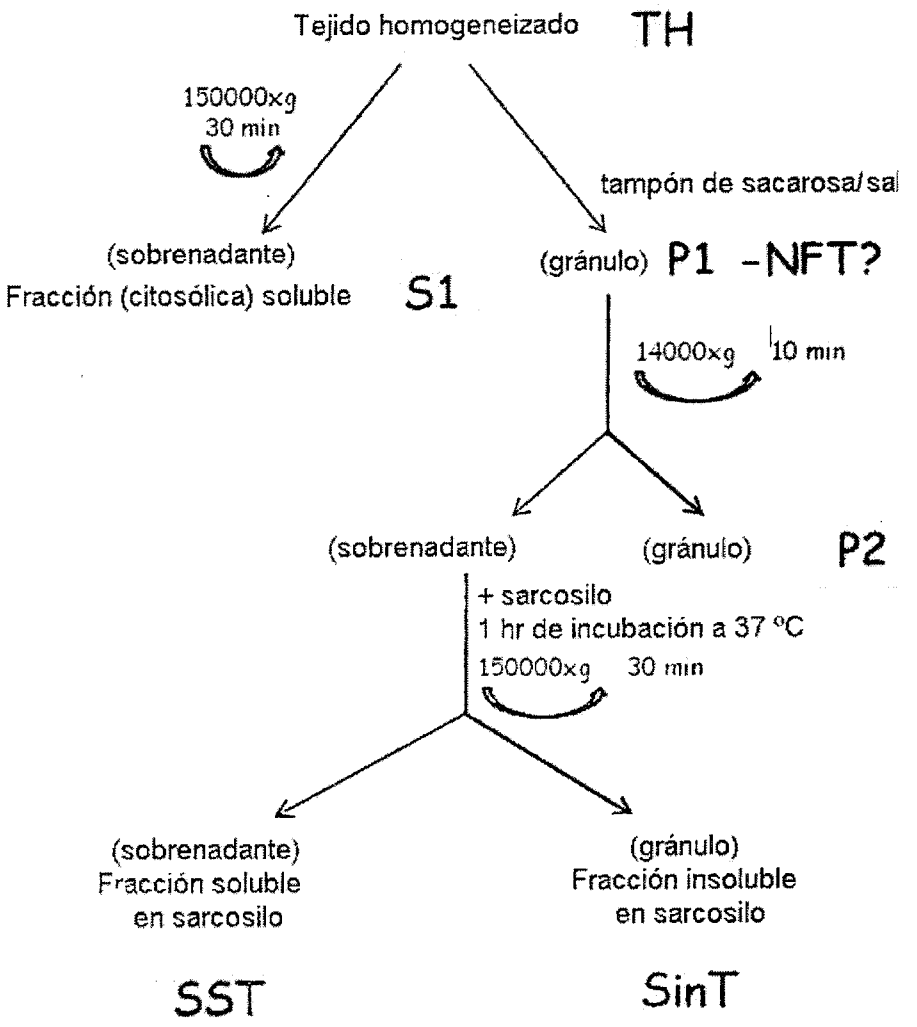
tratados Tg Tau con AD2 (epítope PHF–1, pS396/pS404), anticuerpo anti–pS396 (epítope PHF–13, pS396) y AT180 (pT231/pS235) mediante el uso de WBs.

8.1.6. Efectos de la administración de anticuerpo anti–Tau durante tres meses en epítopes fosfo–Tau mediante el uso de ratones bigénicos Tau biGT

El estudio N.° 4 fue llevado a cabo mediante el uso de ratones Tau bigénicos según lo muestra el Método 6.1. Se prepararon muestras de corteza cerebral de acuerdo con lo mostrado en la figura siguiente, a través del uso del homogenato total (TH) o la fracción soluble (S1) para transferencia Western. Se investigaron las membranas mediante el uso de los siguientes anticuerpos de transferencia para pTau o Tau total:

- HT–7 (26ng/ml), específica de Tau humana total
- PHF–13 (pS396) con una dilución de 1/7500
- AT180 (pT231) en 2,47ug/ml
- AT8 (pS202) en 3ug/ml
- pS404 con una dilución de 1:5000
- pS400 con una dilución de 1:5000

Se normalizaron todas las cuantificaciones con beta–actina.



8.2 Resultaaos para el anticuerpo ACI–36–2B6–Ab1

Las trece inyecciones i.p. de ACI–36–2B6–Ab1 administradas en forma semanal a 1 ó 3 mg/kg durante un período de doce semanas de estudio no mostraron ningún efecto adverso grave.

8.2.1. Resultados de comportamiento – Laberinto de agua de Morris

Los resultados de la prueba de MWM demostraron fuertes tendencias hacia un aprendizaje espacial mejorado para los ratones tratados con ACI–36–2B6–Ab1 (Figura 9).

Durante la última semana del tratamiento, se evaluó el aprendizaje de navegación espacial y la memoria de los animales. Los animales debían completar un

entrenamiento de 4 días con 3 intentos por día seguido de una prueba de sondeo y una prueba visual. Se evaluó la latencia de escape (el tiempo [en segundos] que necesitó el ratón para encontrar la plataforma oculta y por lo tanto, escapar del agua), el camino (la longitud de la trayectoria [en metros] para alcanzar el objetivo), la velocidad de nado (coeficiente calculado del camino y la latencia de escape), y la cantidad de cruces objetivo y la permanencia en el cuadrante objetivo. Los animales control Tg (el grupo A) y los animales de control nTg (grupo F) tratados con el vehículo mostraron las curvas de aprendizaje esperadas en términos de latencia de escape y longitud de la trayectoria del nado para alcanzar la plataforma durante los cuatro días de prueba. Los animales de control Tg (A) mostraron una deficiencia significativa en la capacidad de aprendizaje reflejada en las curvas de aprendizaje más planas de latencias de escape y las trayectorias del nado en comparación con animales de control nTg (grupo F). Las latencias de escape y las trayectorias del nado fueron significativamente diferentes (ANOVA de dos vías) en los días 3 ($p < 0,001$, longitud; prueba posterior de Bonferroni) y 4 del entrenamiento ($p< 0,01$; prueba posterior de Bonferroni). El tratamiento con ACI–36–2B6–Ab1, de dosis alta o baja (B y C) no mejoró en forma significativa la capacidad de aprendizaje espacial en comparación con los animales control Tg (A). Al ajustar el rendimiento de cada grupo en 100% el día 1 de entrenamiento y todos los demás días como porcentaje del día 1, puede observarse una leve mejora para los ratones tratados con ACI–36–2B6–Ab1 (ambas dosis) en longitud de trayectoria del nado, aunque sin importancia desde el punto de vista estadístico. No se detectaron diferencias de tratamiento entre grupos cuando se calculó la velocidad de nado en los cuatro días de entrenamiento. En la prueba de sondeo (PT), se registró la permanencia en el cuadrante objetivo (cuadrante sudoeste) así como también los cruces de zona objetivo. Los controles nTg (grupo F) ocuparon más tiempo en el cuadrante objetivo y cruzaron la zona objetivo con mayor frecuencia respecto de los controles Tg (grupo A) pero sin importancia sustancial.

El tratamiento con ninguna dosis, ya sea alta o baja, condujo a una mejora de las capacidades de aprendizaje espacial en comparación con los ratones de control Tg de acuerdo con lo evaluado en la PT.

8.2.2. Biología molecular

8.2.2.1. Tau en fracción soluble de homogenatos de la corteza

Se evaluaron TAU total, p231TAU, p396TAU y las relaciones entre pTAU y TAU total en la fracción soluble de homogenatos de la corteza de animales n = 16 a partir del grupo A (grupo vehículo Tg: PBS), B (Tg, ACI–36–2B6–Ab1 1 mg/kg) y C

(Tg, ACI–36–2B6–Ab1 3 mg/kg). Un tratamiento con ACI–36–2B6–Ab1 no afectó en forma significativa TAU total y pTAU en los homogenatos de la corteza soluble. No obstante, se observó un ligero aumento (sin importancia) de la TAU total media, p231TAU y p396TAU ante el tratamiento con ACI–36–2B6–Ab1. No se vio afectada la fosforilación de TAU evaluada como las relaciones entre pTAU y TAU total.

8.2.2.2. Tau en fracción insoluble de sarcosilo de homogenatos de la corteza

Se evaluaron TAU total, p231TAU, p396TAU y las relaciones entre pTAU y TAU total en las fracciones insolubles de sarcosilo de los homogenatos de la corteza de animales n = 16 a partir del grupo A (grupo vehículo Tg; PBS), B (Tg, ACI–36–2B6–Ab1 1 mg/kg) y C (Tg, ACI–36–2B6–Ab1 3 mg/kg). Un tratamiento con ACI–36–2B6–Ab1 no afectó en forma significativa TAU total y pTAU en los homogenatos de la corteza insoluble en sarcosilo. Se observó un ligero aumento (sin importancia) de la TAU total media y p231TAU ante el tratamiento con ACI–36–2B6–Ab1. No se vio afectada la fosforilación de TAU evaluada como las relaciones entre pTAU y TAU total.

8.2.2.3. Tau en fracción soluble de homogenatos del hipocampo

Se evaluaron TAU total, p231TAU, p396TAU y las relaciones entre pTAU y TAU total en la fracción soluble de homogenatos del hipocampo de animales n = 16 a partir del grupo A (grupo vehículo Tg; PBS), B (Tg, ACI–36–2B6–AB1 1 mg/kg) y C (Tg, ACI–36–2B6–Ab1 3 mg/kg). Un tratamiento con ACI–36–2B6–Ab1 no afectó en forma significativa TAU total y pTAU en los homogenatos del hipocampo soluble. Se observó una ligera reducción (sin importancia) de la fosforilación de TAU evaluada como las relaciones entre pTAU y TAU total ante el tratamiento con ACI–36–2B6–Ab1.

8.2.2.4. Tau en fracción insoluble de sarcosilo de homogenatos del hipocampo

Se evaluaron TAU total, p231TAU, p396TAU y las relaciones entre pTAU y TAU total en las fracciones insolubles de sarcosilo de los homogenatos del hipocampo de animales n = 16 a partir del grupo A (grupo vehículo Tg; PBS), B (Tg, ACI–36–2B6–AB1 1 mg/kg) y C (Tg, ACI–36–2B6–Ab1 3 mg/kg). Un tratamiento con ACI–36–2B6–Ab1 no afectó en forma significativa TAU total y pTAU en los homogenatos del hipocampo insoluble en sarcosilo. Un tratamiento con 3 mg/kg aumentó la TAU total media, p231TAU así como también p396TAU, aunque sin alcanzar una importancia significativa, mientras se observó una ligera reducción de la TAU total media, p231TAU así como también de p396TAU ante un tratamiento de 1 mg/kg. La fosforilación de TAU evaluada como las relaciones entre pTAU y TAU total fue ligeramente aumentada ante el tratamiento con 3 mg/kg de ACI–36–2B6–Ab1.

8.2.2.5. Western Blots para coteza soluble

El tratamiento con ACI–36–2B6–Ab1 en función de la dosis redujo la presencia tanto de epítopes tau pS396/pS404 (Figura 5D) como de pT181 (Figuras 5E y 5F) en la fracción soluble de la corteza cerebral con un efecto significativo en la dosis de 3 mg/kg.

8.2.2.6 TAU en ratones bigénicos Tau biGT

Los ratones biGT tratados con ACI–36–2B6–Ab1 durante 3 meses presentaron una TAU total significativamente reducida en la fracción soluble de corteza cerebral (Figura 6A y 6B). Se observó una reducción significativa para epítopes pTau pT231/AT180 (Figuras 6C y 6D), pS202/AT8 (Figura 6E) y pS396 (Figuras 6F y 6G). También se observó una reducción significativa en el homogenato total (TH) para epítope pTAU pS400 (Figuras 6H y 6I) y pS404 (Figuras 6L y 6M). Además, también se observo una reducción significativa en la fracción soluble para epítopes pTau pS400 (Figuras 6J y 6K) y una tendencia a reducirse para el epítope pTau pS404 (Figuras 6N y 6O)

8.2.3. Histología

8.2.3.1. Morfometría – Determinación de áreas de la región

Las áreas de la región medida del hipocampo y de la amígdala no difieren en forma significativa en todos los cerebros investigados, lo que excluye los efectos negativos en el tejido durante la disección e IHC o tinción (por ejemplo, la contracción inequívoca, el seccionamiento diferente) y hasta un cierto punto, la atrofia inducida por el tratamiento. Cada una de las secciones puede desviarse de la media del grupo e individual por ejemplo, por el pliegue de tejido o pérdida de partes de la sección durante la ejecución del protocolo de etiquetado. Por lo tanto, el área inmunorreactiva total [en µm2] de cualquier etiquetado fue normalizada en el área de las regiones individuales de las secciones [en mm2] mediante el cálculo del porcentaje del área etiquetada dentro del área de la región [área etiquetada/(área de la región * 10.000)].

8.2.3.2. Resultados de AT180 IH

El anticuerpo AT180 detecta la pTAU humana y endógena (doblemente fosforilada en Thr231 y Ser235). La cantidad de pTAU intrasomal en los controles de nTg fue significativamente menor en comparación con los grupos Tg ($p < 0,01$ así como también $p < 0,001$). En la amígdala, la dosis mayor de ACI–36–2B6–Ab1 (3 mg/kg – grupo C) redujo significativamente la pTAU somal en comparación con animales tratados con el vehículo (Figura 7 izquierda). La dosis menor (1 mg/kg – grupo C) mostró la misma tendencia pero no alcanzó importancia. El mismo efecto resultó detectable en el hipocampo donde ACI–36–2B6–Ab1 redujo pTAU de dosis

dependiente, significativa para la dosis mayor y tendenciosamente para la menor (Figura 7 derecha) Asimismo, esta reducción fue visible en términos cualitativos como una reducción del área de tinción y la intensidad de tinción en los somas neuronales individuales. Los resultados de la suma de intensidades de tinción normalizadas en el tamaño de AOI de IR de AT180 medida en los somas neuronales fueron comparables con el porcentaje de área de IR de AT180 medidos, incluso una dependencia a la dosis significativa del efecto mayor de la dosis mayor en la amígdala. En el hipocampo, las comparaciones *post hoc* no alcanzaron un nivel significativo.

8.2.4 Resumen

La patología Tau cerebral de forma en que fue medida por MSD no mostró un cambio significativo, no obstante, la inmunotinción de secciones del cerebro demostró una dependencia a la dosis con hasta un 60% de reducción en la inmunotinción AT180 (pT231/pS235) en somas neuronales.

El estudio indica que la inmunización pasiva mediante el uso de trece administraciones de un anticuerpo anti–pTau de fosfosita específica ACI–36–2B6–Ab1 puede mejorar el aprendizaje espacial y reducir la patología pTau cerebral.

8.3 Resultados del anticuerpo ACI–36–3A8–Ab1

Las trece inyecciones i.p. de ACI–36–3A8–Ab1 administradas en forma semanal a 1 o 3 mg/kg durante un período de doce semanas de estudio no mostraron ningún efecto adverso grave.

8.3.1. Resultados de comportamiento – Laberinto de agua de Morris

Los resultados de la prueba de MWM demostraron un efecto significativo de un aprendizaje espacial mejorado para los ratones tratados con ACI–36–3A8–Ab1 en 3 mg/kg (Figura 10).

Los animales control Tg (el grupo A) y los animales de control nTg (grupo F) tratados con el vehículo mostraron las curvas de aprendizaje esperadas en términos de latencia de escape y longitud de la trayectoria del nado para alcanzar la plataforma durante los cuatro días de prueba. Los animales de control Tg (A) mostraron una deficiencia significativa en la capacidad de aprendizaje reflejada en las curvas de aprendizaje más planas de latencias de escape y las trayectorias del nado en comparación con animales de control nTg (grupo F). Las latencias de escape y las trayectorias del nado fueron significativamente diferentes (ANOVA de dos vías) en los días 3 ($p < 0,001$, longitud; prueba posterior de Bonferroni) y 4 del entrenamiento ($p < 0,01$; prueba posterior de Bonferroni). El tratamiento con ACI–36–3A8–Ab1, de dosis alta o baja (D y E) no mejoró en forma significativa la capacidad de aprendizaje

espacial en comparación con los animales control Tg (A) cuando se analizaron en valores absolutos. Al ajustar el rendimiento de cada grupo en 100% en el día 1 de entrenamiento y todos los demás días como porcentaje del día 1, puede observarse una mejora en la capacidad de aprendizaje y memoria ante un tratamiento de ACI–36–3A8–Ab1 (ambas dosis). Los animales tratados con la dosis baja de ACI–36–3A8–Ab1 (grupo D) rindieron solo un poco mejor en la MWM si se los compara con los controles Tg (grupo A). El efecto de un tratamiento semanal con 3 mg/kg ACI–36–3A8–Ab1 (grupo E) fue mucho más pronunciado hasta casi restablecer el rendimiento de animales nTg. Comparado con los controles Tg (A), el efecto de 3 mg/kg ACI–36–3A8–Ab1 resultó significativo desde el punto de vista estadístico para la longitud de la trayectoria del nado en el día 3 y en el día 4 ($p < 0,05$). No se detectaron diferencias de tratamiento entre grupos cuando se calculó la velocidad de nado en los cuatro días de entrenamiento.

En la prueba de sondeo (PT), se registró la permanencia en el cuadrante objetivo (cuadrante sudoeste) así como también los cruces de zona objetivo. Los controles nTg (grupo F) ocuparon más tiempo en el cuadrante objetivo y cruzaron la zona objetivo con mayor frecuencia respecto de los controles Tg (grupo A) pero sin importancia sustancial. El tratamiento con ninguna dosis, ya sea alta o baja, condujo a una mejora significativa desde el punto de vista estadístico en comparación con los ratones de control Tg de acuerdo con lo evaluado en la PT. No obstante, los animales tratados con ACI–36–3A8–Ab1 presentaron más cruces de zona objetivo (aunque sin importancia estadística) en comparación con el control Tg, que se encuentra de acuerdo con el resultado de la longitud de nado durante los 4 días de entrenamiento.

8.3.2. Biología molecular

8.3.2.1. Tau en fracción soluble de homogenatos de la corteza

Se evaluaron TAU total, p231TAU, p396TAU y las relaciones entre pTAU y TAU total en la fracción soluble de homogenatos de la corteza de animales n = 16 a partir del grupo A (grupo vehículo Tg: PBS), y D (Tg, ACI–36–3A8–Ab1 1 mg/kg) y de animales n = 15 a partir del grupo E (Tg, ACI–36–3A8–Ab1 3 mg/kg). Un tratamiento con ACI–36–3A8–Ab1 no afectó en forma significativa TAU total y pTAU en los homogenatos de la corteza soluble. No obstante, se observó un ligero aumento (sin importancia) de la TAU total media, p231TAU y p396TAU ante el tratamiento con ACI–36–3A8–Ab1. La fosforilación de TAU en 231 evaluada como las relaciones entre p231TAU y TAU total fue ligeramente reducida ante el tratamiento con 3 mg/kg de ACI–36–3A8–AB1.

8.3.2.2. Tau en fracción insoluble de sarcosilo de homogenatos de la corteza

Se evaluaron TAU total, p231TAU, p396TAU y las relaciones entre pTAU y TAU total en la fracción insoluble en sarcosilo de homogenatos de la corteza de animales n = 15 a partir del grupo A (grupo vehículo Tg; PBS), y D (Tg, ACI–36–3A8–Ab1 1 mg/kg) y de animales n = 15 a partir del grupo E (Tg, ACI–36–3A8–Ab1, 3 mg/kg). Un tratamiento con ACI–36–3A8–Ab1 no afectó en forma significativa TAU total y pTAU en los homogenatos de la corteza insoluble en sarcosilo. Se observó una ligera reducción (sin importancia) de la TAU total media, p231TAU y p396TAU ante el tratamiento con ACI–36–3A8–Ab1. Además, las relaciones entre p231TAU y TAU total de animales tratados con 1 mg/kg ACI–36–3A8–Ab1 mostraron una variabilidad ligeramente menor en comparación con los animales tratados con el vehículo (pero sin importancia en la prueba F: p = 0,184) sin cambiar las relaciones entre p231TAU media y TAU total de los dos grupos. Para grupos tratados con 1 mg/kg y 3 mg/kg ACI–36–3A8–Ab1, se observó un ligero aumento en la fosforilación de p396TAU.

8.3.2.3. Tau en fracción soluble de homogenatos del hipocampo

Se evaluaron TAU total, p231TAU, p396TAU y las relaciones entre pTAU y TAU total en la fracción soluble de homogenatos del hipocampo de animales n = 16 a partir del grupo A (grupo vehículo Tg; PBS), y D (Tg, ACI–36–3A8–Ab1 1 mg/kg) y de animales n = 15 a partir del grupo E (Tg, ACI–36–3A8–Ab1, 3 mg/kg). Los niveles de TAU y pTAU en las fracciones de hipocampo soluble de IRN6301 (grupo D) eran valores atípicos y los excluyó. Un tratamiento con ACI–36–3A8–Ab1 no afectó en forma significativa TAU total y pTAU en los homogenatos de hipocampo soluble. Se observó una ligera reducción (sin importancia) de la fosforilación de TAU en 231 evaluada como las relaciones entre pTAU y TAU total ante el tratamiento con ACI–36–3A8–Ab1.

8.3.2.4. Tau en fracción insoluble de sarcosilo de homogenatos del hipocampo

Se evaluaron TAU total, p231TAU, p396TAU y las relaciones entre pTAU y TAU total en las fracciones insolubles de sarcosilo de los homogenatos del hipocampo de animales n = 16 a partir del grupo A (grupo vehículo Tg; PBS), B (Tg, ACI–36–3A8–AB1 1 mg/kg) y C (Tg, ACI–36–3A8–Ab1 3 mg/kg). Un tratamiento con ACI–36–3A8–Ab1 no afectó en forma significativa TAU total y pTAU en los homogenatos del hipocampo insoluble en sarcosilo. Se observó un ligero aumento (sin importancia) de la TAU total media, p231TAU y p396TAU ante el tratamiento con ACI–36–3A8–Ab1. La fosforilación de TAU evaluada como la relación entre p231TAU y TAU total no fue

afectada y el tratamiento con 1mg/kg de ACI–36–3A8–Ab1 ligeramente redujo la relación entre p396TAU y TAU total.

8.3.2.5. Western Blots para corteza soluble

Una significativa reducción de epítope pTau pS396/pS404 en la corteza cerebral soluble en ratones tratados con 1 ó 3 mg/kg de ACI–36–3A8–Ab1 (Figura 5D). La presencia de epítope pTau pT181 humano/transgénico se redujo en la fracción de la corteza soluble, con un significativo efecto en ratones tratados con 1 mg/kg y la tendencia en ratones tratados con 3 mg/kg (Figura 5E). Se observó una tendencia de una reducción en la cantidad de pTau pT181 endógeno (Figura 5F).

8.3.2.6TAU en ratones bigénicos Tau biGT

Los ratones biGT tratados con ACI–36–3A8–Ab1 durante 3 meses presentaron una TAU total significativamente reducida en la fracción soluble de corteza cerebral (Figura 6A y 6B). Se observó una reducción significativa para epítopes pTau pT231/AT180 (Figuras 6C y 6D), pS202/AT8 (Figura 6E) y pS396 (Figuras 6F y 6G). También se observó una reducción significativa en el homogenato total (TH) para epítope pTAU pS400 (Figuras 6H y 6I) y pS404 (Figuras 6L y 6M). Además, también se observo una reducción significativa en la fracción soluble para epítopes pTau pS400 (Figuras 6J y 6K) y una tendencia a reducirse para el epítope pTau pS404 (Figuras 6N y 6O)

8.3.3. Histología

8.2.3.1. Morfometría – Determinación de áreas de la región

Referirse al Ejemplo 8.2.3.1.

8.3.3.2. Resultados de AT180 IH

El anticuerpo AT180 detecta la pTAU humana y endógena (doblemente fosforilada en Thr231 y Ser235). La cantidad de PTAU intrasomal en los controles de nTg fue significativamente menor en comparación con los grupos Tg ($p < 0,001$). En la amígdala, ambas dosis de ACI–36–3A8–Ab1 [(1 mg/kg – grupo D) y 3 mg/kg (grupo E)] redujeron significativamente la pTAU somal en comparación con animales tratados con el vehículo (Figura 8 izquierda). Un efecto similar pudo detectarse en el hipocampo donde la dosis menor de ACI–36–3A8–Ab1 redujo pTAU; no obstante, en este caso, la dosis mayor fue menos efectiva y solo llevó a una reducción tendenciosa (Figura 8 derecha). Asimismo, esta reducción fue visible en términos cualitativos como una reducción del área de tinción y la intensidad de tinción en los somas neuronales individuales. Los resultados de la suma normalizada de intensidades de IR de AT180

medida en los somas neuronales fueron comparables en la amígdala con un porcentaje de área de IR de AT180 medida pero alcanzó importancia solo para la dosis mayor. En el hipocampo, el resultado fue totalmente comparable con el porcentaje del área de IR.

8.3.4 Resumen

La patología Tau cerebral de forma en que fue medida por MSD no mostró un cambio significativo, no obstante, la inmunotinción de secciones del cerebro demostró una dependencia a la dosis con hasta un 40% de reducción en la inmunotinción AT180 (pT231/pS235) en somas neuronales.

El estudio indica que la inmunización pasiva mediante el uso de trece administraciones de un anticuerpo anti–pTau de fosfosita específica ACI–36–3A8–Ab1 mejora el aprendizaje espacial y reducir la patología pTau cerebral.

Depósitos:

Se depositaron las siguientes líneas celulares de hibridoma a nombre de AC Immune SA, PSE–EPFL Building B, 1015 Lausanne, Suiza y de Katholieke Universiteit Leuven, Minderbroedersstraat 8a – Box 5105, B–3000 Leuven ante el "Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) en Braunschweig, Inhoffenstrasse 7 B, 38124 Braunschweig, en virtud de las disposiciones del Tratado de Budapest:

Nombre del hibridoma	Número de depósito	Fecha del depósito
6C10F9C12A11	DSM ACC3079	25 de agosto de 2010
6C10E5E9C12	DSM ACC3081	25 de agosto de 2010
6H1A11C11	DSM ACC3080	25 de agosto de 2010
6H1G6E6	DSM ACC3088	25 de agosto de 2010
2B6A10C11	DSM ACC3084	25 de agosto de 2010
2B6G7A12	DSM ACC3087	25 de agosto de 2010
3A8A12G7	DSM ACC3086	25 de agosto de 2010
3A8E12H8	DSM ACC3085	25 de agosto de 2010
7C2(1)F10C10D3	DSM ACC3082	25 de agosto de 2010
7C2(2)B9F11D5	DSM ACC3083	25 de agosto de 2010
A4–4A6–48	DSM ACC3136	30 de agosto de 2011
A6–2G5–30	DSM ACC3137	30 de agosto de 2011
A6–2G5–41	DSM ACC3138	30 de agosto de 2011
A4–2A1–18	DSM ACC3139	30 de agosto de 2011
A4–2A1–40	DSM ACC3140	30 de agosto de 2011
A6–1D2–12	DSM ACC3141	6 de septiembre de 2011

Tabla 1. Secuencia Tau, vacuna y descripción del anticuerpo

Descripción	Vacuna	Secuencia*, longitud (n), número de ID de secuencia	Hibridomas	Anticuerpos
T1: Tau 5–20 [pY18]	ACI–33	RQEFEVMEDHAGTY(p)GL (n = 16) (SEQ ID NO: 59)	6C10F9C12A11	ACI–33–6C10–Ab1
			6C10E5E9C12	ACI–33–6C10–Ab2
T8: Tau 206–221 [pT212, pS214] T9: Secuencia 9: Tau 196–211 [pS202, pT205]	ACI–41	PGSRSRT(p)PS(p)LPTPPTR (n = 16) (SEQ ID NO: 60) GYSSPGS(p)PGT(p)PGSRSR (n = 16) (SEQ ID NO: 61)	6H1A11C11	ACI–36–6H1–Ab1
			6H1G6E6	ACI–36–6H1–Ab2
			2B6A10C11	ACI–36–2B6–Ab1
			2B6G7A12	ACI–36–2B6–Ab2
			3A8A12G7	ACI–36–3A8–Ab1
			3A8E12H8	ACI–36–3A8–Ab2
T4: Tau 401–418 [pS404, pS409]	ACI–36	GDTS(p)PRHLS(p)NVSSTGSID (n = 18) (SEQ ID NO: 63)	7C2(1)F10C10D3	ACI–41–7C2–Ab1
			7C2(2)B9F11D5	ACI–41–7C2–Ab1
T3: Tau 393–40[illegible] [pS396, pS404]	ACI–35	VYKS(p)PVVSGDTS(p)PRHL (n = 16) (SEQ ID NO: 62)	A4–4A6–48	ACI–35–4A6–Ab2
			A6–2G5–30	ACI–35–2G5–Ab2

			A6–2G5–41	ACI–35–2G5–Ab3
			A4–2A1–18	ACI–35–2A1–Ab1
			A4–2A1–40	ACI–35–2A1–Ab2
			A6–1D2–12	ACI–35–1D2–Ab1
T5: Secuencia de control: Tau 379-408 [pS396, pS404]	ACI–37	RENAKAKTDH GAEIVYKS(p)PVVS GDTS(p)PRHL (n = 30) (SEQ ID NO: 58)		
T8: Tau 206–221 [pT212, pS214]	ACI–39	PGSRSRT(p)PS(p)LPTPPTR (n = 16) (SEQ ID NO: 60)		
T9 : Tau 196–211 [pS202, pT205]	ACI–40	GYSSPGS(p)PGT(p)PGSRSR (n = 16) (SEQ ID NO: 61)		
T2: Tau 200–216 [pS202+ pT205 & pT212+pS214]	ACI–34	PGS(p)PGT(p)PGSRSRT(p)PS(p)L P (n = 17) (SEQ ID NO: 64)		
T10: Tau 407–418 [pS409]	ACI–42	HLS(p)NVSSTGSID (n = 12) (SEQ ID NO: 65)		
T11: Tau 399–408 [pS404]	ACI–43	VSGDTS(p)PRHL (n = 10) (SEQ ID NO: 66)		

*En base a la isoforma más larga de Tau humana (Tau441). p indica residuo fosforilado.

Tabla 2. Resultados del control de hibridoma ACI–33

Control con placa de 24 cavidades		*Control con recipientes T25*		
Positivo en ELISA	**Positivo en TAUPIR**	**Positivo en control de IgG**	**Positivo en ELISA**	**Positivo en TAUPIR**
1A7		1A7		
	1A11			
	1C11	1C11		
2C9		2C9		
3C3		3C3	3C3	
3C5		3C5		
3E8		3E8		
3G10	3G10	3G10	3G10	
6C10	6C10	6C10	6C10	6C10
6F3		6F3		
6F8		6F8		

Tabla 3. Resultados del control de hibridoma ACI–36

Control con placa de 24 cavidades		*Control con recipientes T25*		
Positivo en ELISA	**Positivo en TAUPIR**	**Positivo en control de IgG**	**Positivo en ELISA**	**Positivo en TAUPIR**
2B6	2B6	2B6	2B6	2B6
2F9	2F9	2F9	2F9	2F9
2G1		2G1	2G1	2G1

3A8	3A8	3A8	3A8	3A8
3B9		3B9	3B9	3B9
3F11	3F11	3F11		3F11
	4A3			4A3
4C1		4C1	4C1	4C1
4C12		4C12	4C12	4C12
4E12		4E12	4E12	4E12
5E10		5E10	5E10	
5F5		5F5	5F5	
7D6	7D6	7D6	7D6	7D6
6H1		6H1	6H1	6H1

Tabla 4: Clasificación para clones positivos en ELISA y TAUPIR de ACI–36

clasif. para ELISA	clasif. para TAUPIR
3A8	6H1
2B6	4C1
4C1	3A8
6H1	4C12
4C12	2B6
2G1	2F9
2F9	3B9
7D6	2G1
3B9	7D6
4E12	4E12

Tabla 5. Resultados del control de hibridoma ACI–41

Control con placa de 24 cavidades		*Control con recipientes T25*		
Positivo en ELISA	**Positivo en TAUPIR**	**Positivo en ELISA**	**Positivo en TAUPIR**	**Positivo en ELISA**
	3D11	3D11		3D11
4H6		4H6		4H6

5D10	5D10	5D10	5D10	5D10
5E6	5E6			
5F10		5F10		
6B7		6B7	6B7	
7C2	7C2	7C2	7C2	7C2
	8G8			8G8
	8H8	8H8		8H8

Tabla 6. Control de hibridomas para unirse con el blanco

Hibridomas	**Anticuerpos**	**ELISA**				**TAUPIR**	**Western Blot**
		Péptido Tau p	*Péptido Tau*	*pTau de longitud total*	*Tau de longitud total*		
6C10F9C12A11	ACI–33–6C10–Ab1	+	–	+/–	–	+	–
6C10E5E9C12	ACI–33–6C10–Ab2	+	–	+/–	–	+	–
6H1A11C11	ACI–36–6H1–Ab1	+	–	+	–	+	+
6H1G6E6	ACI–36–6H1–Ab2	+	–	+	–	+	+
2B6A10C11	ACI–36–2B6–Ab1	+	–	+	–	+	+
2B6G7A12	ACI–36–2B6–Ab2	+	–	+	–	+	+

3A8A12G7	ACI–36–3A8–Ab1	+	–	+	–	+	+
3A8E12H8	ACI–36–3A8–Ab2	+	–	+	–/+	+	+
7C2(1)F10C10D3	ACI–41–7C2–Ab1	+	–	+	–	+	–
7C2(2)B9F11D5	ACI–41–7C2–Ab2	+	–	+	–	+	–
A4–2A1–18	ACI–35–2A1–Ab1	+	–	+	–		
A4–2A1–40	ACI–35–2A1–Ab2	+	–	+	–		
A4–4A6–18	ACI–35–4A6–Ab1	+	–	–	+		
A4–4A6–48	ACI–35–4A6–Ab2						
A6–1D2–12	ACI–35–1D2–Ab1	+	–	+	–		
A6–2G5–08	ACI–35–2G5–Ab1	+	–	–	–		
A6–2G5–30	ACI–35–2G5–Ab2	+	–	+	–		
A6–2G5–41	ACI–35–2G5–Ab3	+	–	+	–		

Tabla 7. Afinidad de unión de anticuerpos anti–tau

Hibridomas	Anticuerpos	Constante de velocidad de asociación (k_d) (1/Ms)	Constante de velocidad de disociación (k_a) (1/s)	Constante de disociación (K_D) (nM)
6C10F9C12A 11	ACI–33–6C10–Ab1	9.46×10^5	3.27×10^{-3}	3.46
6H1A11C11	ACI–36–6H1–Ab1	3.53×10^4	6.80×10^{-5}	1.93
6H1G6E6	ACI–36–6H1–Ab2	9.99×10^4	9.58×10^{-5}	0.96
2B6A10C11	ACI–36–2B6–Ab1	6.90×10^5	1.63×10^{-4}	0.24
2B6G7A12	ACI–36–2B6–Ab2	9.11×10^5	1.11×10^{-4}	0.12
3A8A12G7	ACI–36–3A8–Ab1	1.01×10^6	1.09×10^{-4}	0.11
3A8E12H8	ACI–36–3A8–Ab2	8.43×10^5	1.43×10^{-4}	0.17
A4–4A6–18	ACI–35–4A6–Ab1	2.00×10^5	3.10×10^{-3}	16
A6–1D2–12	ACI–35–1D2–Ab1	1.60×10^3	9.30×10^{-6}	≤ 6
A6–2G5–08	ACI–35–2G5–Ab1	4.80×10^5	5.30×10^{-3}	10

Tabla 8. Librerías de péptidos usadas para mapeo de epítope

Librería de péptidos para T1

	N.° de aminoácidos Tau(441)	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
	Aminoácido	R	Q	E	F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y(P)	G
Fosfopéptidos	**Péptido N.°**															
	T1.18											A	G	T	Y(P)	G
	T1.17										H	A	G	T	Y(P)	G
	T1.16									D	H	A	G	T	Y(P)	G
	T1.15								E	D	H	A	G	T	Y(P)	G
	T1.14							M	E	D	H	A	G	T	Y(P)	G
	T1.13						V	M	E	D	H	A	G	T	Y(P)	G
	T1.12					E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y(P)	G
	T1.11				F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y(P)	G
	T1.10			E	F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y(P)	G
	T1.9		Q	E	F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y(P)	G
	T1.7	R	Q	E	F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y(P)	G
	Aminoácido	R	Q	E	F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y	G
No fosfopéptidos	**Péptido N.°**															
	T1.28											A	G	T	Y	G
	T1.27										H	A	G	T	Y	G
	T1.26									D	H	A	G	T	Y	G
	T1.25								E	D	H	A	G	T	Y	G
	T1.24							M	E	D	H	A	G	T	Y	G
	T1.23						V	M	E	D	H	A	G	T	Y	G
	T1.22					E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y	G
	T1.21				F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y	G
	T1.20			E	F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y	G
	T1.19		Q	E	F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y	G
	T1.8	R	Q	E	F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y	G

Tabla 8. Continuación

Librería de péptidos para T4

	N.° aminoácido Tau(441)	401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415	416	4
	Aminoácido	G	D	T	S(p)	P	R	H	L	S(p)	N	V	S	S	T	G	S	
Fosfopéptidos	**Péptido N.°**																	
	T3.17	G	D	T	S(p)	P	R	H	L									
	T4.11		D	T	S(p)	P	R	H	L	S(p)								
	T4.12			T	S(p)	P	R	H	L	S(p)	N							
	T4.13				S(p)	P	R	H	L	S(p)	N	V						
	T4.14					P	R	H	L	S(p)	N	V	S					
	T4.15						R	H	L	S(p)	N	V	S	S				
	T4.16							H	L	S(p)	N	V	S	S	T			
	T4.17								L	S(p)	N	V	S	S	T	G		
	T4.18									S(p)	N	V	S	S	T	G	S	
	T4.19										N	V	S	S	T	G	S	
	T4.20											V	S	S	T	G	S	
	Aminoácido	G	D	T	S	P	R	H	L	S	N	V	S	S	T	G	S	
No fosfopéptidos	**Péptido N.°**																	
	T3.26	G	D	T	S	P	R	H	L									
	T4.21		D	T	S	P	R	H	L	S								
	T4.22			T	S	P	R	H	L	S	N							
	T4.23				S	P	R	H	L	S	N	V						
	T4.24					P	R	H	L	S	N	V	S					
	T4.25						R	H	L	S	N	V	S	S				
	T4.26							H	L	S	N	V	S	S	T			
	T4.27								L	S	N	V	S	S	T	G		
	T4.28									S	N	V	S	S	T	G	S	
	T4.19										N	V	S	S	T	G	S	
	T4.20											V	S	S	T	G	S	

Tabla 8. Continuación

Librería de péptidos para T8														
N.º de aminoácido Tau(441)		206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219
Aminoácido		P	G	S	R	S	R	T(p)	P	S(p)	L	P	T	P	P
	Péptido N.º														
Fosfopéptidos	T8.7	P	G	S	R	S	R	T(p)	P						
	T8.8		G	S	R	S	R	T(p)	P	S(p)					
	T8.9			S	R	S	R	T(p)	P	S(p)	L				
	T8.10				R	S	R	T(p)	P	S(p)	L	P			
	T8.11					S	R	T(p)	P	S(p)	L	P	T		
	T8.12						R	T(p)	P	S(p)	L	P	T	P	
	T8.13							T(p)	P	S(p)	L	P	T	P	P
	T8.14								P	S(p)	L	P	T	P	P
	T8.15									S(p)	L	P	T	P	P
Aminoácido		P	G	S	R	S	R	T	P	S	L	P	T	P	P
	Péptido N.º														
No fosfopéptidos	T8.16	P	G	S	R	S	R	T	P						
	T8.17		G	S	R	S	R	T	P	S					
	T8.18			S	R	S	R	T	P	S	L				
	T8.19				R	S	R	T	P	S	L	P			
	T8.20					S	R	T	P	S	L	P	T		
	T8.21						R	T	P	S	L	P	T	P	
	T8.22							T	P	S	L	P	T	P	P
	T8.23								P	S	L	P	T	P	P
	T8.24									S	L	P	T	P	P

Tabla 8. Continuación

Librería de péptidos para T9															
N.º de aminoácidos Tau(441)		196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209
Aminoácido		G	Y	S	S	P	G	S(p)	P	G	T(p)	P	G	S	R
	Péptido N.º														
Fosfopéptidos	T9.7	G	Y	S	S	P	G	S(p)	P						
	T9.8		Y	S	S	P	G	S(p)	P	G					
	T9.9			S	S	P	G	S(p)	P	G	T(p)				
	T9.10				S	P	G	S(p)	P	G	T(p)	P			
	T9.11					P	G	S(p)	P	G	T(p)	P	G		
	T9.12						G	S(p)	P	G	T(p)	P	G	S	
	T9.13							S(p)	P	G	T(p)	P	G	S	R
	T9.14								P	G	T(p)	P	G	S	R
	T9.15									G	T(p)	P	G	S	R
Aminoácido		G	Y	S	S	P	G	S	P	G	T	P	G	S	R
	Péptido N.º														
No fosfopéptidos	T9.16	G	Y	S	S	P	G	S	P						
	T9.17		Y	S	S	P	G	S	P	G					
	T9.18			S	S	P	G	S	P	G	T				
	T9.19				S	P	G	S	P	G	T	P			
	T9.20					P	G	S	P	G	T	P	G		
	T9.21						G	S	P	G	T	P	G	S	
	T9.22							S	P	G	T	P	G	S	R
	T9.23								P	G	T	P	G	S	R
	T9.24									G	T	P	G	S	R

Tabla 8. Continuación

Librería de péptidos para T3																
N.° de aminoácidos Tau(441)		393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404	405	406	407
Aminoácidos		V	Y	K	S(p)	P	V	V	S	G	D	T	S(p)	P	R	H
Fosfopéptidos	Péptido N.°															
	T3.9	V	Y	K	S(p)	P	V	V	S							
	T3.10		Y	K	S(p)	P	V	V	S	G						
	T3.11			K	S(p)	P	V	V	S	G	D					
	T3.12				S(p)	P	V	V	S	G	D	T				
	T3.13					P	V	V	S	G	D	T	S(p)			
	T3.14						V	V	S	G	D	T	S(p)	P		
	T3.15							V	S	G	D	T	S(p)	P	R	
	T3.16								S	G	D	T	S(p)	P	R	H
	T3.17									G	D	T	S(p)	P	R	H
Aminoácido		V	Y	K	S	P	V	V	S	G	D	T	S	P	R	H
No fosfopéptidos	Péptido N.°															
	T3.18	V	Y	K	S	P	V	V	S							
	T3.19		Y	K	S	P	V	V	S	G						
	T3.20			K	S	P	V	V	S	G	D					
	T3.21				S	P	V	V	S	G	D	T				
	T3.22					P	V	V	S	G	D	T	S			
	T3.23						V	V	S	G	D	T	S	P		
	T3.24							V	S	G	D	T	S	P	R	
	T3.25								S	G	D	T	S	P	R	H
	T3.26									G	D	T	S	P	R	H

Tabla 9. Aminoácidos Tau y fosfo–residuos requeridos para la unión de anticuerpos.

Vacuna	Hibridoma	Epítope*
ACI–33	6C10F9C12A11	Tau aa 15–20, con requerimiento por pY18
ACI–33	6C10E5E9C12	Tau aa 15–20, con requerimiento por pY18
ACI–36	6H1A11C11	Tau aa 405–412, con requerimiento por pS409
ACI–36	6H1G6E6	Tau aa 405–412, con requerimiento por pS409
ACI–36	2B6A10C11	Tau aa 405–411, con requerimiento por pS409
ACI–36	2B6G7A12	Tau aa 405–411, con requerimiento por pS409
ACI–36	3A8A12G7	Tau aa 405–411, con requerimiento por pS409
ACI–36	3A8E12H8	Tau aa 405–411, con requerimiento por pS409
ACI–41	7C2(1)F10C10D3	Tau aa 208–218, con requerimiento por pT212 y pS214
ACI–35	A4–2A1–18	Tau aa 393–401, con requerimiento por pS396
ACI–35	A4–2A1–40	Tau aa 393–401, con requerimiento por pS396

ACI–35	A4–4A6–18	Tau aa 396–401, con requerimiento por pS396
ACI–35	A6–1D2–12	Tau aa 394–400, con requerimiento por pS396
ACI–35	A6–2G5–08	Tau aa 402–406, con requerimiento por pS404
ACI–35	A6–2G5–30	Tau aa 393–400, con requerimiento por pS396
ACI–35	A6–2G5–41	Tau aa 393–400, con requerimiento por pS396

*En base a la isoforma más larga de Tau humana (Tau441)

Tabla 10. Secuencia de aminoácidos de las regiones variables de cadena pesada y de cadena liviana (VH y VK) y CDRs

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VK CDR1	VK CDR2	VK CDR3
ACI–36	3A8A12G7*	SEQ ID NO: 46 y SEQ ID NO: 47	VK_AD (SEQ ID NO: 48/ SEQ ID NO: 49/ y SEQ ID NO: 51)	EVQLQQSGPELVKPGA SVKISCKASGYTFTDYY MNWVKQSHGKSLEWIG DINPNRGGTTYNQKFK GKATLTVDKSSSTAYM ELRSLTSEDSAVYYCAS YYAVGYWGQGTTLTVS S (SEQ ID NO: 1)	DIVMTQSPSSLAMSVG QKVTMSCKSSQSVFNS GNQKNSLAWYQQKPG QSPKLLVYFASTRESGV PDRFIGSGSGTDFSLTI SSVQAEDLADYFCQEH YTTPPTFGTGTKLELK (SEQ ID NO: 6)	GYTFTD YYMN (SEQ ID NO: 12)	DINPNR GGTTYN QKFKG (SEQ ID NO: 13)	YYAVG Y (SEQ ID NO: 14)	KSSQSVF NSGNQK NSLA (SEQ ID NO: 21)	FASTRE S (SEQ ID NO: 22)	QEHYTT PPT (SEQ ID NO: 23)
ACI–36	3A8A12G7*	SEQ ID NO: 46 y SEQ ID NO: 47	VK_G (SEQ ID NO: 50 y SEQ ID	EVQLQQSGPELVKPGA SVKISCKASGYTFTDYY MNWVKQSHGKSLEWIG DINPNRGGTTYNQKFK	DVVMTQTPLSLPVSLG DQASISCRSSQRLVHS HGKTYLHWYLQKPGQS PKLLIYKVSNRFSGVPD	GYTFTD YYMN (SEQ ID NO: 12)	DINPNR GGTTYN QKFKG (SEQ ID	YYAVG Y (SEQ ID NO: 14)	RSSQRLV HSHGKT YLH (SEQ ID NO: 24)	KVSNRF S (SEQ ID NO: 25)	SQTAHF PYT (SEQ ID NO: 26)

CU0129

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VK CDR1	VK CDR2	VK CDR3
			NO: 51)	GKATLTVDKSSSTAYM ELRSLTSEDSAVYYCAS YYAVGYWGQGTTLTVS S (SEQ ID NO: 1	RFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDLGVYFCSQTAH FPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 7)		NO: 13)				
ACI–36	3A8E12H8*	SEQ ID NO: 46 y SEQ ID NO: 47	VK_AD (SEQ ID NO: 48/ SEQ ID NO: 49 y SEQ ID NO: 51)	EVQLQQSGPELVKPGA SVKISCKASGYTFTDYY MNWVKQSHGKSLEWIG DINPNRGGTTYNQKFK GKATLTVDKSSSTAYM ELRSLTSEDSAVYYCAS YYAVGYWGQGTTLTVS S (SEQ ID NO: 1)	DIVMTQSPSSLAMSVG QKVTMSCKSSQSVFNS GNQKNSLAWYQQKPG QSPKLLVYFASTRESGV PDRFIGSGSGTDFSLTI SSVQAEDLADYFCQEH YTTPPTFGTGTKLELK (SEQ ID NO: 6)	GYTFTD YYMN (SEQ ID NO: 12	DINPNR GGTTYN QKFKG (SEQ ID NO: 13)	YYAVG Y (SEQ ID NO: 14)	KSSQSVF NSGNQK NSLA (SEQ ID NO: 21)	FASTRE S (SEQ ID NO: 22)	QEHYTT PPT (SEQ ID NO: 23)

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VK CDR1	VK CDR2	VK CDR3
ACI–36	3A8E12H8*	SEQ ID NO: 46 y SEQ ID NO: 47	VK_G (SEQ ID NO: 50 y SEQ ID NO: 51)	EVQLQQSGPELVKPGA SVKISCKASGYTFTDYY MNWVKQSHGKSLEWIG DINPNRGGTTYNQKFK GKATLTVDKSSSTAYM ELRSLTSEDSAVYYCAS YYAVGYWGQGTTLTVS S (SEQ ID NO: 1)	DVVMTQTPLSLPVSLG DQASISCRSSQRLVHS HGKTYLHWYLQKPGQS PKLLIYKVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDLGVYFCSQTAH FPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 7)	GYTFTD YYMN (SEQ ID NO: 12	DINPNR GGTTYN QKFKG (SEQ ID NO: 13)	YYAVG Y (SEQ ID NO: 14)	RSSQRLV HSHGKT YLH (SEQ ID NO: 24)	KVSNRF S (SEQ ID NO: 25)	SQTAHF PYT (SEQ ID NO: 26)
ACI–36	2B6A10C11	SEQ ID NO: 46/SEQ ID NO: 52 y	SEQ ID NO: 50 y SEQ ID NO: 51	EVQLQQSGPELVKPGT SVKISCKASGYTFTDYY MNWVKQSHGKSLEWIG DINPNRGGTTYNQKFK GKATLTVDKSSSTAYM	DVVMTQTPLSLPVSLG DQASISCRSSQSLVHSH GKTYLHWYLQKPGQSP KLLIYKVSNRFSGVPDR FSGSGSGTDFTLKISRV	GYTFTD YYMN (SEQ ID NO: 12)	DINPNR GGTTYN QKFKG (SEQ ID NO: 13)	YYAVG Y (SEQ ID NO: 14)	RSSQSLV HSHGKT YLH (SEQ ID NO: 27)	KVSNRF S (SEQ ID NO: 25)	SQTAHF PYT (SEQ ID NO: 26)

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VK CDR1	VK CDR2	VK CDR3
		SEQ ID NO: 47		ELRSLTSEDSAVYYCAS YYAVGYWGQGTTLTVS S (SEQ ID NO: 2)	EAEDLGVYFCSQTAHF PYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 8)						
ACI–36	2B6G7A12	SEQ ID NO: 46/SEQ ID NO: 52 y SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 50 y SEQ ID NO: 51	EVQLQQSGPELVKPGT SVKISCKASGYTFTDYY MNWVKQSHGKSLEWIG DINPNRGGTTYNQKFK GKATLTVDKSSSTAYM ELRSLTSEDSAVYYCAS YYAVGYWGQGTTLTVS S (SEQ ID NO: 2)	DVVMTQTPLSLPVSLG DQASISCRSSQSLVHSH GKTYLHWYLQKPGQSP KLLIYKVSNRFSGVPDR FSGSGSGTDFTLKISRV EAEDLGVYFCSQTAHF PYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 8)	GYTFTD YYMN (SEQ ID NO: 12)	DINPNR GGTTYN QKFKG (SEQ ID NO: 13)	YYAVG Y (SEQ ID NO: 14)	RSSQSLV HSHGKT YLH (SEQ ID NO: 27)	KVSNRF S (SEQ ID NO: 25)	SQTAHF PYT (SEQ ID NO: 26)
ACI–36	6H1A11C11	SEQ ID NO: 46 y	SEQ ID NO: 50 y	EVQLQQSGPELVKPGA SVKISCKASGYTFTDYY	DVVMTQTPLSLPVSLG DQASISCRSSQSLLHSH	GYTFTD YYMN	DINPNR GGTTYN	YYAVG Y (SEQ	RSSQSLL HSHGNT	KVSNRF S (SEQ	SQTAHF PYT

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VK CDR1	VK CDR2	VK CDR3
		SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 51	MNWVKQSHGKSLEWIG DINPNRGGTTYNQK K GKATLTVDTSSSTAYME LRSLTSEDSAVYYCASY YAVGYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 3)	GNTYLHWYLQKPGQSP KLLIYKVSNRFSGVPDR FSGSGSGTDFTLKISRV EAEDLGVYFCSQTAHF PYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 9)	(SEQ ID NO: 12)	QKFKG (SEQ ID NO: 13)	ID NO: 14)	YLH (SEQ ID NO. 28)	ID NO: 25)	(SEQ ID [illegible]
ACI-36	6H1G6E6	SEQ ID NO: 46 y SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 50 y SEQ ID NO: 51	EVQLQQSGPELVKPGA SVKISCKASGYTFTDYY MNWVKQSHGKSLEWIG DINPNRGGTTYNQKFK GKATLTVDTSSSTAYME LRSLTSEDSAVYYCASY YAVGYWGQGTTLTVSS	DVVMTQTPLSLPVSLG DQASISCRSSQSLLHSH GNTYLHWYLQKPGQSP KLLIYKVSNRFSGVPDR FSGSGSGTDFTLKISRV EAEDLGVYFCSQTAHF PYTFGGGTKLEIK (SEQ	GYTFTD YYMN (SEQ ID NO: 12)	DINPNR GGTTYN QKFKG (SEQ ID NO: 13)	YYAVG Y (SEQ ID NO: 14)	RSSQSLL HSHGNT YLH (SEQ ID NO: 28)	KVSNRF (SEQ ID NO: 25)	SQTAHF PYT (SEQ ID NO: 26)

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VK CDR1	VK CDR2	VK CDR3
				(SEQ ID NO: 3)	ID NO: 9)						
ACI–33	6C10E5E9C12	SEQ ID NO: 53/SEQ ID NO:54 y SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 48/SEQ ID NO:49 y SEQ ID NO: 51	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAPSGFTFSDYGMHWVRQAPEKGLEWVAYISSGSSTIYYGDTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCARRGQLRLRLFAYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 4)	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASYRYTGVPDRFTGSGSGTDFTFTISSVQAEDLAVYYCQQHYTTPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 10)	GFTFSDYGMH (SEQ ID NO: 15)	YISSGSSTIYYGDTVKG (SEQ ID NO: 16)	RGQLRLRLFAY (SEQ ID NO: 17)	KASQDVSTAVA (SEQ ID NO: 29)	SASYRYT (SEQ ID NO: 30)	QQHYTTPLT (SEQ ID NO: 31)
ACI–33	6C10F9C12A11	SEQ ID NO: 53/SEQ	SEQ ID NO: 54 y SEQ ID	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAPSGFTFSDYGMHWVRQAPEKGLEWV	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIY	GFTFSDYGMH (SEQ ID	YISSGSSTIYYGDTVKG	RGQLRLRLFAY (SEQ ID	KASQDVSTAVA (SEQ ID	SASYRYT (SEQ ID NO:	QQHYTTPLT (SEQ ID NO:

C00174

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VK CDR1	VK CDR2	VK CDR3
		ID NO:54 y SEQ ID NO: 47	NO: 51	AYISSGSSTIYYGDTVK GRFTISRDNAKNTLFLQ MTSLRSEDTAMYYCAR RGQLRLRLFAYWGQGT LVTVSA (SEQ ID NO: 4)	SASYRYTGVPDRFTGS GSGTDFTFTISSVQAED LAVYYCQQHYTTPLTFG AGTKLELK (SEQ ID NO: 10)	NO: 15)	(SEQ ID NO: 16)	NO: 17)	NO: 29)	30)	31)
ACI–41	7C2(1)F10C 10D3	SEQ ID NO: 53/ SEQ ID NO:55 y SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 49/SEQ ID NO:56/SEQ ID NO: 57 y SEQ ID NO: 51	EVKLMESGGGLVHPGA SLRLYCAASGFTFTDYY MSWVRQPPGKAPEWL ALIRNKANGYTTEYTAS VKGRFTISRDNSQNILY LQMNTLRAEDSATYYC VKALGRYFDVWGTGTT VTVSS(SEQ ID NO: 5)	DIVMSQSPSSLAVSVGE KVTMSCKSSQSLLYSS NQKNYLAWYQQKPGQ SPKLLIYWASTRESGVP DRFTGSGSGTDFTLTIS SVKAEDLAVYYCQQYY SYPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 11)	GFTFTD YYMS (SEQ ID NO: 18)	LIRNKAN GYTTEY TASVKG (SEQ ID NO: 19)	ALGRY FDV (SEQ ID NO: 20)	KSSQSLL YSSNQK NYLA (SEQ ID NO: 32)	WASTRE S (SEQ ID NO: 33)	QQYYSY PFT (SEQ ID NO: 34)

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VK CDR1	VK CDR2	VK CDR3
ACI–41	7C2(2)B9F1 1D5	SEQ ID NO: 53/ SEQ ID NO:55 y SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 57 y SEQ ID NO: 51	EVKLMESGGGLVHPGA SLRLYCAASGFTFTDYY MSWVRQPPGKAPEWL ALIRNKANGYTTEYTAS VKGRFTISRDNSQNILY LQMNTLRAEDSATYYC VKALGRYFDVWGTGTT VTVSS (SEQ ID NO: 5)	DIVMSQSPSSLAVSVGE KVTMSCKSSQSLLYSS NQKNYLAWYQQKPGQ SPKLLIYWASTRESGVP DRFTGSGSGTDFTLTIS SVKAEDLAVYYCQQYY SYPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 11)	GFTFTD YYMS (SEQ ID NO: 18)	LIRNKAN GYTTEY TASVKG (SEQ ID NO: 19)	ALGRY FDV (SEQ ID NO: 20)	KSSQSLL YSSNQK NYLA(SE Q ID NO: 32)	WASTRE S (SEQ ID NO: 33)	QQYYSY PFT (SEQ ID NO: 34)
ACI–35	A4–4A6–18			QVQLQQPGAELLKPGA SVKLSCKASGYTFTSY WMHWVKQRPGRGLE WIGRIDPNSDRTKYNEK FKRKATLTVDKSSSTAY	DVLMTQTPLSLPVSLGD QASISCRSSQSIVHSNG NTYLEWYLQKPGQSPK LLIYKLSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVE	GYTFTS YWMH (SEQ ID NO: 70)	RIDPNS DRTKYN EKFKR (SEQ ID NO: 71)	DDYAW FAY (SEQ ID NO: 72)	RSSQSIV HSNGNT YLE (SEQ ID NO: 73)	KLSNRF S (SEQ ID NO: 74)	FQGSHV PPT (SEQ ID NO: 75)

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VK CDR1	VK CDR2	VK CDR3
				MQLSSLTSEDSAVYYC ARDDYAVFAYWGQGT LVTVSA (SEQ ID NO: 68)	AEDLGVYYCFQGSHVP PTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 69)						
ACI–35	A6–1D2–12			QVTLKESGPGILQSSQT LSLTCSFSGFSLSTSGM GVSWIRQPSGKGLEWL AHIYWDDDKRYNASLK SRLTISKDTSRNQVFLKI TCVDTADTATYYCARLL RPYALDYWGQGTSVTV SS (SEQ ID NO: 76)	NILMTQSPSSLAVSAGE KVTMSCKSSQSVLYSS NQKNYLAWYQQKPGQ SPKLLIYWASTRESGVP DRFTGSGSGTDFTLTIS SVQAEDLAVYYCLQYLS SLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 77)	GFSLST SGMGVS (SEQ ID NO: 78)	HIYWDD DKRYNA SLKS (SEQ ID NO: 79)	LLRPYA LDY (SEQ ID NO: 80)	KSSQSVL YSSNQK NYLA (SEQ ID NO: 81)	WASTRE S (SEQ ID NO: 82)	LQYLSSL T (SEQ ID NO: 83)

U00147

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VK CDR1	VK CDR2	VK CDR3
ACI–35	A4–2A1–18			EVQLQQSGPELVKPGA SVKISCKASGYTFTDYY MNWVKQSHGKSLEWIG DINPNNGGTSYNQKFK GKATLTVDKSSSTAYM ELRSLTSEDSAVYYCVR EGRFAYWGHGTLVTVS A (SEQ ID NO: 88)	DIVMTQAAPSVPVTPGE SVSISCRSSKSLLHSNG NTYLYWFLQRPGQSPQ LLIHRMSNLASGVPDRF SGSGSGTAFTLRISRVE AEDVGVYYCMQHLKSP YTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 116)	GYTFTD YYMN (SEQ ID NO: 89)	DINPNN GGTSYN QKFKG (SEQ ID NO: 90)	EGRFA Y (SEQ ID NO: 91)	RSSKSLL HSNGNT YLY (SEQ ID NO: 93)	RMSNLA S (SEQ ID NO: 94)	MQHLKS PYT (SEQ ID NO: 95)
ACI–35	A4–2A1–40			EVQLQQSGPELVKPGA SVKISCKASGYTFTDYY MNWVKQSHGKSLEWIG DINPNNGGTSYNQKFK GKATLTVDKSSSTAYM	DIX*MTQAAPSVPVTPG ESVSISCRSSKSLLHSN GNTYLYWFLQRPGQSP QLLIYRMSNLASGVPDR FSGSGSGTAFTLRISRV	GYTFTD YYMN (SEQ ID NO: 89)	DINPNN GGTSYN QKFKG (SEQ ID NO: 90)	EGRFA Y (SEQ ID NO: 91)	RSSKSLL HSNGNT YLY (SEQ ID NO: 93)	RMSNLA S (SEQ ID NO: 94)	MQHLKS PYT (SEQ ID NO: 95)

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VK CDR1	VK CDR2	VK CDR3
				ELRSLTSEDSAVYYCVR EGRFAYWGHGTLVTVS A (SEQ ID NO: 88)	EAEDVGVYYCMQHLKS PYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 92) *X = M o V						
ACI-35	A4-4A6-48			EVQLQQSGPELVKPGA SVKISCKASGYTFTDYY MNWVKQSHGKSLEWIG DINPNNGGTSYNQKFK GKATLTVDKSSSTAYM ELRSLTSEDSAVYYCVR EGRFAYWGHGTLVTVS A (SEQ ID NO: 88)	DIVMTQAAPSVPVTPGE SVSISCRSSKSLLHSNG NTYLYWFLQRPGQSPQ LLIYRMSNLASGVPDRF SGSGSGTAFTLRISRVE AEDVGVYYCMQHLKSP YTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 118)	GYTFTD YYMN (SEQ ID NO: 89)	DINPNN GGTSYN QKFKG (SEQ ID NO: 90)	EGRFA Y (SEQ ID NO: 91)	RSSKSLL HSNGNT YLY (SEQ ID NO: 93)	RMSNLA S (SEQ ID NO: 94)	MQHLKS PYT (SEQ ID NO: 95)

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VK CDR1	VK CDR2	VK CDR3
ACI–35	A6–2G5–08			QVQLKQSGAELVRPGA SVKLSCKASGYTFTDYY INWVKQRPGQGLEWIA RIYPGRGNIYYNEKFKG KATLTAEKSSSTAYMQL SSLTSEDSAVYFCARF WDVTYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 96)	DVLMTQTPLSLPVSLGD QASISCRSSQSIVHSNG NTYLEWFLQKPGQSPK LLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVE AEDLGVYYCFQGSHVP YTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 97)	GYTFTD YYIN (SEQ ID NO: 98)	RIYPGR GNIYYN EKFKG (SEQ ID NO: 99)	FWDVT Y (SEQ ID NO: 100)	RSSQSIV HSNGNT YLE (SEQ ID NO: 101)	KVSNRF S (SEQ ID NO: 102)	FQGSHV PYT (SEQ ID NO: 103)
ACI–35	A6–2G5–30			EVQLQQSGPELVKPGA SVKISCKASGFTFTDYY MNWVKQSHGKSLEWIG DINPNNGGTSYHQKFK GKATLTVDKSSSTAYM	DIVMTQSQKFMSTSVG DRVSVTCKASQNVGTN VAWYQQKPGQSPKALI YSASYRYSGVPDRFTG SGSGTDFTLTISNVQSE	GFTFTD YYMN (SEQ ID NO: 89)	DINPNN GGTSYH QKFKG (SEQ ID NO: 115)	EGRFA Y (SEQ ID NO: 91)	KASQNV GTNVA (SEQ ID NO: 106)	SASYRY S (SEQ ID NO: 107)	QQYNSY PYT (SEQ ID NO: 108)

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VK CDR1	VK CDR2	VK CDR3
				ELRSLTSEDSAVYYCVR EGRFAYWGQGTLVTVS A (SEQ ID NO: 104)	DLAEYFCQQYNSYPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 105)						
ACI–35	A6–2G5–41			EVQLQQSGPELVKPGA SVKISCKASGFTFTDYY MNWVKQSHGKSLEWIG DINPNNGGTSYHQKFK GKATLTVDKSSSTAYM ELRSLTSEDSAVYYCVR EGRFAYWGQGTLVTVS A (SEQ ID NO: 104)	DIVMTQSQKFMSTSVG DRVSVTCKASQNVGTN VAWYQQKPGQSPKALI YSASYRYSGVPDRFTG SGSGTDFTLTISNVQSE DLAEYFCQQYNSYPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 105)	GFTFTD YYMN (SEQ ID NO: 89)	DINPNN GGTSYH QKFKG (SEQ ID NO: 115)	EGRFA Y (SEQ ID NO: 91)	KASQNV GTNVA (SEQ ID NO: 106)	SASYRY S (SEQ ID NO: 107)	QQYNSY PYT (SEQ ID NO: 108)

00151

Tabla 11. Secuencia de nucleótidos de las regiones variables de cadena pesada y cadena liviana (VH y VK)

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–36	3A8A12G7*	SEQ ID NO: 46 y SEQ ID NO: 47	VK_AD (SEQ ID NO: 48/ SEQ ID NO: 49/ y SEQ ID NO: 51)	GAGGTCCACCTGCAACAATCTGGACCTGAA CTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATA TCCTGTAAGGCTTCTGGATATACGTTCACTG ACTACTACATGAACTGGGTGAAGCAGAGCC ATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATAT TAATCCTAACCGTGGTGGAACTACTTACAAC CAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACGTTGACT GTAGACAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATG GAACTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACTCT GCAGTCTATTACTGTGCAAGTTACTACGCCG TGGGCTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCA CAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 35)	GACATTGTGATGACACAGTCTCCATCCTCCCTGG CTATGTCAGTAGGACAGAAGGTCACTATGAGCTG CAAGTCCAGTCAGAGTGTTTTTAATAGTGGCAAT CAAAAGAACTCTTTGGCCTGGTACCAGCAGAAAC CAGGACAGTCTCCTAAACTTCTGGTATACTTTGC ATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGATCGCTTC ATAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCAGTCTTA CCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAGGACCTGGCAG ATTACTTCTGTCAGGAACATTATACCACTCCTCCC ACGTTCGGTACTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA (SEQ ID NO: 40)

C001152

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI-36	3A8A12G7*	SEQ ID NO: 46 y SEQ ID NO: 47	VK_G (SEQ ID NO: 50 y SEQ ID NO: 51)	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAA CTGCTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATA TCCTGTAAGGCTTCTGGATATACGTTCACTG ACTACTACATGAACTGGGTGAAGCAGAGCC ATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATAT TAATCCTAACCGTGGTGGAACTACTTACAAC CAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACGTTGACT GTAGACAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATG GAACTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACTCT GCAGTCTATTACTGTGCAAGTTACTACGCCG TGGGCTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCA CAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 35)	GATGTTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGC CTGTCAGTCTTCGAGATCAAGCCTCCATCTCTTG CAGATCTAGTCAGAGGCTTGTACACAGTCATGGA AAAACCTATTTACATTGGTACCTGCAGAAGCCAG GCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTC CAACCGGTTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGT GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAG ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTT TATTTCTGTTCTCAAACTGCACATTTTCCGTACAC GTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 41)

000153

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–36	3A8E12H8*	SEQ ID NO: 46 y SEQ ID NO: 47	VK_AD (SEQ ID NO: 48/ SEQ ID NO: 49 y SEQ ID NO: 51)	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAA CTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATA TCCTGTAAGGCTTCTGGATATACGTTCACTG ACTACTACATGAACTGGGTGAAGCAGAGCC ATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATAT TAATCCTAACCGTGGTGGAACTACTTACAAC CAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACGTTGACT GTAGACAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATG GAACTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACTCT GCAGTCTATTACTGTGCAAGTTACTACGCCG TGGGCTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCA CAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 35)	GACATTGTGATGACACAGTCTCCATCCTCCCTGG CTATGTCAGTAGGACAGAAGGTCACTATGAGCTG CAAGTCCAGTCAGAGTGTTTTTAATAGTGGCAAT CAAAAGAACTCTTTGGCCTGGTACCAGCAGAAAC CAGGACAGTCTCCTAAACTTCTGGTATACTTTGC ATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGATCGCTTC ATAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCAGTCTTA CCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAGGACCTGGCAG ATTACTTCTGTCAGGAACATTATACCACTCCTCCC ACGTTCGGTACTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA (SEQ ID NO: 40)

U00154

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–36	3A8E12H8*	SEQ ID NO. 46 y SEQ ID NO: 47	VK_G (SEQ ID NO. 50 y SEQ ID NO: 51)	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAA CTCGTGAAGCCTCGGGCTTCAGTGAAGATA TCCTGTAAGGCTTCTGGATATACGTTCACTG ACTACTACATGAACTGGGTGAAGCAGAGCC ATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATAT TAATCCTAACCGTGGTGGAACTACTTACAAC CAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACGTTGACT GTAGACAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATG GAACTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACTCT GCAGTCTATTACTGTGCAAGTTACTACGCCG TGGGCTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCA CAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 35)	GATGTTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGC CTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTG CAGATCTAGTCAGAGGCTTGTACACAGTCATGGA AAAACCTATTTACATTGGTACCTGCAGAAGCCAG GCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTC CAACCGGTTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGT GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAG ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTT TATTTCTGTTCTCAAACTGCACATTTTCCGTACAC GTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 41)

156

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–36	2B6A10C11	SEQ ID NO: 46/SEQ ID NO: 52 y SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 50 y SEQ ID NO: 51	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAA CTGGTGAAGCCTGGGACTTCAGTGAAGATA TCCTGTAAGGCTTCTGGATATACGTTCACTG ACTACTACATGAACTGGGTGAAGCAGAGCC ATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATAT TAATCCTAACCGTGGTGGAACTACTTACAAC CAGAAGTTTAAGGGCAAGGCCACGTTGACT GTAGACAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATG GAACTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACTCT GCAGTCTATTACTGTGCAAGTTACTACGCCG TGGGCTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCA CAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 36)	GATGTTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGC CTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTG CAGATCTAGTCAGAGCCTTGTACACAGTCATGGA AAAACCTATTTACATTGGTACCTGCAGAAGCCAG GCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTC CAACCGGTTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGT GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAG ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTT TATTTCTGTTCTCAAACTGCACATTTTCCGTACAC GTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 42)

600156

57

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–36	2B6G7A12	SEQ ID NO: 46/SEQ ID NO: 52 y SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 50 y SEQ ID NO: 51	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAA CTGGTGAAGCCTGGGACTTCAGTGAAGATA TCCTGTAAGGCTTCTGGATATACGTTCACTG ACTACTACATGAACTGGGTGAAGCAGAGCC ATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATAT TAATCCTAACCGTGGTGGAACTACTTACAAC CAGAAGTTTAAGGGCAAGGCCACGTTGACT GTAGACAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATG GAACTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACTCT GCAGTCTATTACTGTGCAAGTTACTACGCCG TGGGCTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCA CAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 36)	GATGTTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGC CTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTG CAGATCTAGTCAGAGCCTTGTACACAGTCATGGA AAAACCTATTTACATTGGTACCTGCAGAAGCCAG GCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTC CAACCGGTTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGT GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAG ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTT TATTTCTGTTCTCAAACTGCACATTTTCCGTACAC GTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 42)

000557

158

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–36	6H1A11C11	SEQ ID NO: 46 y SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 50 y SEQ ID NO: 51	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAA CTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATA TCCTGTAAGGCTTCTGGATACACGTTCACTG ACTACTACATGAACTGGGTGAAGCAGAGCC ATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATAT TAATCCTAACCGTGGTGGAACTACTTACAAC CAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACGTTGACT GTAGACACGTCCTCCAGCACAGCCTACATG GAGCTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACTCT GCAGTCTATTACTGTGCAAGTTACTACGCCG TGGGCTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCA CAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 37)	GATGTTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGC CTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTG CAGATCTAGTCA GAGCCTTCTACACAGTCATGGAAACACCTATTTA CATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCA AAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGGTTTT CTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGAT CAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGT GGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCT CAAACTGCACATTTTCCGTACACGTTCGGAGGGG GGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 43)

C00138

159

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–36	6H1G6E6	SEQ ID NO: 46 y SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 50 y SEQ ID NO: 51	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAA CTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATA TCCTGTAAGGCTTCTGGATACACGTTCACTG ACTACTACATGAACTGGGTGAAGCAGAGCC ATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATAT TAATCCTAACCGTGGTGGAACTACTTACAAC CAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACGTTGACT GTAGACACGTCCTCCAGCACAGCCTACATG GAGCTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACTCT GCAGTCTATTACTGTGCAAGTTACTACGCCG TGGGCTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCA CAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 37)	GATGTTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGC CTCTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTG CAGATCTAGTCA GAGCCTTCTACACAGTCATGGAAACACCTATTTA CATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCA AAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGGTTTT CTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGAT CAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGT GGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCT CAAACTGCACATTTTCCGTACACGTTCGGAGGGG GGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 43)

160

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–33	6C10E5E9C 12	SEQ ID NO: 53/SEQ ID NO:54 y SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 48/SEQ ID NO:49 y SEQ ID NO: 51	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGG CTTAGTGAAGCCTGCAGGGTCCCTGAAACT CTCCTGTGCACCCTCTGGATTCACTTTCAGT GACTATGGAATGCACTGGGTTCGTCAGGCT CCAGAGAAGGGACTGGAGTGGGTTGCATAC ATTAGTAGTGGCAGTAGTACCATCTACTATG GAGACACAGTGAAGGGCCGATTCACCATCT CCAGAGACAATGCCAAGAACACCCTGTTCCT GCAAATGACCAGTCTGAGGTCTGAGGACAC GGCCATGTATTACTGTGCAAGAAGGGGACA GCTCAGGCTACGCCTGTTTGCTTACTGGGG CCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 38)	GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGT CCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCATCACCT GCAAGGCCAGTCAGGATGTGAGTACTGCTGTAG CCTGGTATCAACAGAAACCAGGACAATCTCCTAA ACTACTGATTTACTCGGCATCCTACCGGTACACT GGAGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCT GGGACGGATTTCACTTTCACCATCAGCAGTGTGC AGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAGCA ACATTATACTACTCCGCTCACGTTCGGTGCTGGG ACCAAGCTGGAGCTGAAA (SEQ ID NO: 44)

161

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–33	6C10F9C12 A11	SEQ ID NO: 53/SEQ ID NO:54 y SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 54 y SEQ ID NO: 51	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGG CTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAACT CTCCTGTGCACCCTCTGGATTCACTTTCAGT GACTATGGAATGCACTGGGTTCGTCAGGCT CCAGAGAAGGGACTGGAGTGGGTTGCATAC ATTAGTAGTGGCAGTAGTACCATCTACTATG GAGACACAGTGAAGGGCCGATTCACCATCT CCAGAGACAATGCCAAGAACACCCTGTTCCT GCAAATGACCAGTCTGAGGTCTGAGGACAC GGCCATGTATTACTGTGCAAGAAGGGGACA GCTCAGGCTACGCCTGTTTGCTTACTGGGG CCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 38)	GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGT CCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCATCACCT GCAAGGCCAGTCAGGATGTGAGTACTGCTGTAG CCTGGTATCAACAGAAACCAGGACAATCTCCTAA ACTACTGATTTACTCGGCATCCTACCGGTACACT GGAGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCT GGGACGGATTTCACTTTCACCATCAGCAGTGTGC AGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAGCA ACATTATACTACTCCGCTCACGTTCGGTGCTGGG ACCAAGCTGGAGCTGAAA (SEQ ID NO: 44)

162

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–41	7C2(1)F10C 10D3	SEQ ID NO. 53/ SEQ ID NO:55 y SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 49/SEQ ID NO:56/SEQ ID NO: 57 y SEQ ID NO: 51	GAGGTGAAGCTGATGGAATCTGGAGGAGGC TTGGTACACCCTGGGGCTTCTCTGAGACTCT ACTGTGCAGCTTCTGGATTCACCTTTACTGA TTACTACATGAGCTGGGTCCGCCAGCCTCC AGGGAAGGCACCTGAGTGGTTGGCTTTGAT TAGAAACAAAGCTAATGGTTACACAACAGAG TATACTGCATCTGTTAAGGGTCGGTTCACCA TCTCCAGAGATAATTCCCAAAACATCCTCTA TCTTCAAATGAACACCCTGAGGGCTGAGGA CAGTGCCACTTATTACTGTGTAAAAGCTCTG GGACGTTACTTCGATGTCTGGGGCACAGGG ACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 39)	GACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTCCCTAG CTGTCTCAGTTGGAGAGAAGGTTACTATGAGCTG CAAGTCCAGTCAGAGCCTTTTATATAGTAGCAAT CAAAAGAACTACTTGGCCTGGTACCAGCAGAAAC CAGGGCAGTCTCCTAAACTGCTGATTTACTGGGC ATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGATCGCTTC ACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCA CCATCAGCAGTGTGAAGGCTGAAGACCTGGCAG TTTATTACTGTCAGCAATATTATAGCTATCCATTC ACGTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 45)

163

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–41	7C2(2)B9F1 1D5	SEQ ID NO: 53 y SEQ ID NO:55 y SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 57 y SEQ ID NO: 51	GAGGTGAAGCTGATGGAATCTGGAGGAGGC TTGGTACACCCTGGGGCTTCTCTGAGACTCT ACTGTGCAGCTTCTGGATTCACCTTTACTGA TTACTACATGAGCTGGGTCCGCCAGCCTCC AGGGAAGGCACCTGAGTGGTTGGCTTTGAT TAGAAACAAAGCTAATGGTTACACAACAGAG TATACTGCATCTGTTAAGGGTCGGTTCACCA TCTCCAGAGATAATTCCCAAAACATCCTCTA TCTTCAAATGAACACCCTGAGGGCTGAGGA CAGTGCCACTTATTACTGTGTAAAAGCTCTG GGACGTTACTTCGATGTCTGGGGCACAGGG ACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 39)	GACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTCCCTAG CTGTGTCAGTTGGAGAGAAGGTTACTATGAGCTG CAAGTCCAGTCAGAGCCTTTTATATAGTAGCAAT CAAAAGAACTACTTGGCCTGGTACCAGCAGAAAC CAGGGCAGTCTCCTAAACTGCTGATTTACTGGGC ATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGATCGCTTC ACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCA CCATCAGCAGTGTGAAGGCTGAAGACCTGGCAG TTTATTACTGTCAGCAATATTATAGCTATCCATTC ACGTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 45)

164

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–35	A4–4A6–18			CAGGTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCTGAG CTTCTGAAGCCTGGGGCTTCAGTCAAACTGT CCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCA GCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGC CTGGACGAGGCCTTGAGTGGATTGGAAGGA TTGATCCTAATAGTGATCGTACTAAGTACAAT GAGAAGTTCAAGCGCAAGGCCACACTGACT GTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGC AGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTG CGGTCTATTATTGTGCAAGGGATGATTACGC CTGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCT GGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 84)	GATGTTTTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGC CTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTG CAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAGTAATGGA AACACCTATTTAGAATGGTACCTGCAGAAACCAG GCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAACTTTC CAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGT GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAG ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTT TATTACTGCTTTCAAGGTTCACATGTTCCTCCGAC GTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 85)	

C00134

165

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–35	A6–1D2–12			CAGGTTACTCTGAAAGAGTCTGGCCCTGGG ATATTGCAGTCCTCCCAGACCCTCAGTCTGA CTTGTTCTTTCTCTGGGTTTTCACTGAGCAC TTCTGGTATGGGTGTGAGCTGGATTCGTCA GCCTTCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGC ACACATTTACTGGGATGATGACAAGCGCTAT AACGCATCCCTGAAGAGCCGGCTCACAATC TCCAAGGATACCTCCAGAAACCAGGTATTCC TCAAGATCACCTGTGTGGACACTGCAGATAC TGCCACATACTACTGTGCTCGGTTACTGCGT CCTTATGCTTTGGACTACTGGGGTCAAGGAA CCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 86)	AACATTTTGATGACACAGTCGCCATCATCTCTGG CTGTGTCTGCAGGAGAAAAGGTCAGTATGAGCTG TAAGTCCAGTCAAAGTGTTTTATACAGTTCAAATC AGAAGAACTACTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACC AGGGCAGTCTCCTAAACTGCTGATCTACTGGGCA TCCACTAGGGAATCTGGTGTCCCTGATCGCTTCA CAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTCTTAC CATCAGCAGTGTACAAGCTGAAGACCTGGCAGTT TATTACTGTCTTCAATACCTCTCCTCGCTCACGTT CGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA (SEQ ID NO: 87)

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–35	A4–2A1–18			GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAG CTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATA TCCTGTAAGGCTTCTGGATACACGTTCACTG ACTACTACATGAACTGGGTGAAGCAGAGCC ATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATAT TAATCCTAACAATGGTGGTACTAGCTACAAC CAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACT GTAGACAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATG GAGCTCCGCAGTCTGACATCTGAGGACTCT GCAGTCTATTATTGTGTAAGAGAGGGGCGG TTTGCTTACTGGGGTCATGGGACTCTGGTCA CTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 109)	GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCTCTGTAC CTGTCACTCCTGGAGAGTCAGTATCCATCTCCTG CAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTGCATAGTAATGGC AACACTTACTTGTATTGGTTCCTGCAGAGGCCAG GCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATACATCGGATGTC CAACCTTGCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTCAGT GGCAGTGGGTCAGGAACTGCTTTCACACTGAGA ATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTT TATTACTGTATGCAACATCTAAAATCTCCGTACAC GTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 117)

000166

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–35	A4–2A1–40			GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAG CTGGTGAAGCCTCGGGCTTCAGTGAAGATA TCCTGTAAGGCTTCTGGATACACGTTCACTG ACTACTACATGAACTGGGTGAAGCAGAGCC ATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATAT TAATCCTAACAATGGTGGTACTAGCTACAAC CAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACT GTAGACAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATG GAGCTCCGCAGTCTGACATCTGAGGACTCT GCAGTCTATTATTGTGTAAGAGAGGGGCGG TTTGCTTACTGGGGTCATGGGACTCTGGTCA CTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 109)	GATATTR*TGATGACTCAGGCTGCACCCTCTGTA CCTGTCACTCCTGGAGAGTCAGTATCCATCTCCT GCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTGCATAGTAATGG CAACACTTACTTGTATTGGTTCCTGCAGAGGCCA GGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATATATCGGATGT CCAACCTTGCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCAGGAACTGCTTTCACACTGA GAATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTG TTTATTACTGTATGCAACATCTAAAATCTCCGTAC ACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 110) R* = A o G

00167

168

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–35	A4–4A6–48			GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAG CTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATA TCCTGTAAGGCTTCTGGATACACGTTCACTG ACTACTACATGAACTGGGTGAAGCAGAGCC ATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATAT TAATCCTAACAATGGTGGTACTAGCTACAAC CAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACT GTAGACAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATG GAGCTCCGCAGTCTGACATCTGAGGACTCT GCAGTCTATTATTGTGTAAGAGAGGGGCGG TTTGCTTACTGGGGTCATGGGACTCTGGTCA CTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 109)	GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCTCTGTAC CTGTCACTCCTGGAGAGTCAGTATCCATCTCCTG CAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTGCATAGTAATGGC AACACTTACTTGTATTGGTTCCTGCAGAGGCCAG GCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATATATCGGATGTC CAACCTTGCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTCAGT GGCAGTGGGTCAGGAACTGCTTTCACACTGAGA ATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTT TATTACTGTATGCAACATCTAAAATCTCCGTACAC GTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 119)

169

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI-35	A6-2G5-08			CAGGTCCAGCTGAAGCAGTCTGGGGCTGAG CTGGTGACGCCTGGGGCTTCAGTGAAACTG TCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACTTTCACTG ACTACTATATAAACTGGGTGAAGCAGAGGCC TGGACAGGGACTTGAGTGGATTGCAAGGAT TTATCCTGGAAGAGGTAATATTTACTACAAT GAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACT GCAGAAAAATCCTCCAGCACTGCCTACATGC AGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTG CTGTCTATTTCTGTGCAAGATTCTGGGACGT GACTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCAC TGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 111)	GATGTTTTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGC CTGTCAGTCTTGGAGATCAACCCTCCATCTCTTC CAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAGTAATGGA AACACCTATTTAGAATGGTTCCTGCAGAAACCAG GCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTC CAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGT GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAG ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTT TATTACTGCTTTCAAGGTTCACATGTTCCGTACAC GTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 112)

CC0169

170

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–35	A6–2G5–30			GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAG CTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATA TCCTGTAAGGCTTCTGGATTCACGTTCACTG ACTACTACATGAACTGGGTGAAGCAGAGCC ATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATAT TAATCCTAACAATGGTGGTACTAGCTACCAC CAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACT GTAGACAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATG GAGCTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACTCT GCAGTCTATTACTGTGTAAGAGAGGGAAGAT TTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCA CTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 113)	GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGT CCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCT GCAAGGCCAGTCAGAATGTGGGTACTAATGTAG CCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCAATCTCCTAA AGCACTGATTTACTCGGCATCCTACCGGTACAGT GGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCT GGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAATGTGC AGTCTGAAGACTTGGCAGAGTATTTCTGTCAGCA ATATAACAGCTATCCGTACACGTTCGGAGGGGG GACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 114)

070420

Vacuna	Hibridoma	Cebador VH (mezcla)	Cebador VK (mezcla)	VH	VK
ACI–35	A6–2G5–41			GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAG CTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATA TCCTGTAAGGCTTCTGGATTCACGTTCACTG ACTACTACATGAACTGGGTGAAGCAGAGCC ATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATAT TAATCCTAACAATGGTGGTACTAGCTACCAC CAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACT GTAGACAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATG GAGCTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACTCT GCAGTCTATTACTGTGTAAGAGAGGGAAGAT TTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCA CTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 113)	GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGT CCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCT GCAAGGCCAGTCAGAATGTGGGTACTAATGTAG CCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCAATCTCCTAA AGCACTGATTTACTCGGCATCCTACCGGTACAGT GGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCT GGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAATGTGC AGTCTGAAGACTTGGCAGAGTATTTCTGTCAGCA ATATAACAGCTATCCGTACACGTTCGGAGGGGG GACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 114)

*Dos secuencias V_K productivas 6 y 7 en la Tabla 10; secuencias 40 y 41 en la Tabla 11) se aislaron de las líneas celulares 3A8A12G7 y 3A8E12H8; las secuencias "V_K_G" se prepararon de clones hechos usando mezcla de cebador "G" y secuencias "V_K_AD" de clones hechos usando mezclas de cebadores "A" y "D". Conforme a ello, dos anticuerpos con diferentes secuencias kappa son producidos por estos hibridomas.

172

Tabla 12. Cebadores usados para la secuenciación de CDR de regiones variables de anticuerpos

Subclón	Isotipo Ab	Secuencias de cebadores			SEQ ID NO
3A8A 12G7	IgG2b	Cebadores VH	5'	GGGAATTCATGRAATGSASCTGGGTYWTYCTCTT	46
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		Cebadores VK	5'	GGGAATTCATGRAGWCACAKWCYCAGGTCTTT	48
			AD	ACTAGTCGACATGGGCWTCAAGATGRAGTCACAKWYYCWGG	49
			5' G	ACTAGTCGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	50
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
3A8E 12H8	IgG2b	Cebadores VH	5'	GGGAATTCATGRAATGSASCTGGGTYWTYCTCTT	46
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		Cebadores VK	5'	GGGAATTCATGRAGWCACAKWCYCAGGTCTTT	48
			AD	ACTAGTCGACATGGGCWTCAAGATGRAGTCACAKWYYCWGG	49
			5' G	ACTAGTCGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	50
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
2B6A 10C11	IgG2b	Cebadores	5'	GGGAATTCATGRAATGSASCTGGGTYWTYCTCTT	46

CU01172

Subclón	Isotipo Ab	Secuencias de cebadores			SEQ ID NO
		VH		ACTAGTCGACATGGGATGGAGCTRTATCATSYTCTT	52
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		Cebadores	5'	ACTAGTCGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	50
		VK	3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
2B6G 7A12	IgG2b	Cebadores	5'	GGGAATTCATGRAATGSASCTGGGTYWTYCTCTT	46
		VH		ACTAGTCGACATGGGATGGAGCTRTATCATSYTCTT	52
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		Cebadores	5'	ACTAGTCGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	50
		VK	3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
6H1A11C11	IgG2b	Cebadores	5'	GGGAATTCATGRAATGSASCTGGGTYWTYCTCTT	46
		VH	3'	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		Cebadores	5'	ACTAGTCGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	50
		VK	3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
6H1G 6E6	IgG2b	Cebadores	5'	GGGAATTCATGRAATGSASCTGGGTYWTYCTCTT	46

CU01173

Subclón	Isotipo Ab	Secuencias de cebadores			SEQ ID NO
		VH	3'	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		Cebadores	5'	ACTAGTCGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	50
		VK	3'	CCCAAGCTTACTCGATGGTGGGAAGATGGA	51
6C10F9	IgG3	Cebadores	5'	GGGAATTCATGRASTTSKGGYTMARCTKGRTTT	53
C12A11		VH		ACTAGTCGACATGGACTCCAGGCTCAATTTAGTTTTCCT	54
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		Cebadores	5'	ACTAGTCGACATGGACTCCAGGCTCAATTTAGTTTTCCT	54
		VK	3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
6C10E5E	IgG3	Cebadores	5'	GGGAATTCATGRASTTSKGGYTMARCTKGRTTT	53
9C12		VH		ACTAGTCGACATGGACTCCAGGCTCAATTTAGTTTTCCT	54
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		Cebadores	5'	GGGAATTCATGRAGWCACAKWCYCAGGTCTTT	48
		VK		ACTAGTCGACATGGGCWTCAAGATGRAGTCACAKWYYCWGG	49
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51

000174

Subclón	Isotipo Ab	Secuencias de cebadores			SEQ ID NO
7C2(1)F10C	IgG2b	Cebadores	5'	GGGAATTCATGRASTTSKGGYTMARCTKGRTTT	53
10D3		VH		ACTAGTCGACATGAAGWTGTGGBTRAACTGGRT	55
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		Cebadores	5'	ACTAGTCGACATGGAGWCAGACACACISCTGYTATGGGT	56
		VK		ACTAGTCGACATGGGCWTCAAGATGRAGTCACAKWYYCWGG	49
				ACTAGTCGACATGGTYCTYATVTTRCTGCTGCTATGG	57
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
7C2(2)B9F	IgG2b	Cebadores	5'	GGGAATTCATGRASTTSKGGYTMARCTKGRTTT	53
11D5		VH		ACTAGTCGACATGAAGWTGTGGBTRAACTGGRT	55
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		Cebadores	5'	ACTAGTCGACATGGTYCTYATVTTRCTGCTGCTATGG	57
		VK	3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
A6–2G5–08	IgG2a	Cebadores	5'	GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTTTTTCTCTT	120
		VH		GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTCTTTCTCTT	121

Subclón	Isotipo Ab	Secuencias de cebadores			SEQ ID NO
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTCATTCTCTT	122
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTTTTTCTCTT	123
				GGGAATTCATGCAATGGAGCTGGGTTATTCTCTT	124
				GGGAATTCATGAAATGGAGCTGGGTCTTTTCTT	125
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTCTTCCTCTT	126
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTTTTCCTCTTC	127
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAACGGGTGG	128
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAAACGATGG	129
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAAACGGTGG	130
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAAACGGATGG	131
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGTGGATAGACGGGTGG	132
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAGATGATGG	133
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAAACGGGTGG	134
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAAACGATGG	135

177

Subclón	Isotipo Ab	Secuencias de cebadores			SEQ ID NO
		Cebadores VK	5'	ACTAGTCGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	50
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
A4–2A1–18	IgG2b	Cebadores VH	5'	GGCAATTCATGGAATGGAGCTGGGTCATTCTCTT	136
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTTTTTCTCTT	120
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTTTTTCTCTT	123
				GGGAATTCATGGAATGCACCTGGGTTTTCCTCTT	137
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTCTTCCTCTT	138
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTCATCCTCTT	139
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTTATTCTCTT	124
				ACTAGTCGACATGGGATGAGCTTATCATCCTCTT	140
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAACGGTGG	141
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGTGGGATAAACGGGTGG	142
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAAACGGGTGG	134
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAGACGGGTGG	143

178

Subclón	Isotipo Ab	Secuencias de cebadores			SEQ ID NO
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAAACGGATGG	144
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGGGGATAAACGGATGG	145
				CCCAAGCTTCCAGCGACCAATGGATAAACGGATGG	131
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAGGGATAAACGGGTGG	146
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAAACCGGTGG	147
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGTGGATAAACGGTGG	148
		Cebadores	5'	ACTAGTCGACATGGTGTCCACAGCTCAGTTCCTTG	149
		VK	3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
A6–2G5–30	IgG2b	Cebadores	5'	GGGAATTCATGAAATGGAGCTGGGTCTTCCTCTT	150
		VH		GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTTATTCTCTT	151
				GGGAATTTATGGAATGGAGCTGGGTCTTCCTCTT	152
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTTTTCCTCTT	127
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTCATCCTCTT	153
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTTATTCTCTT	124

08/12/08

179

Subclón	Isotipo Ab	Secuencias de cebadores			SEQ ID NO
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTTTTCCTCTT	154
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTCTTTCTCTT	155
				ACTAGTCGACATGGGATGGAGCTATATCATCCTCTT	156
				ACTAGTCGACATGGGATGGAGCTTATCATCTTCTT	157
				ACTAGTCGACATGTAGATGTGGTTAAACTGGGT	158
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGGCCAGGGGATAAACGGATGG	159
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAAGGGATAGACGGATGG	160
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGGGGATAGACGGGTGG	161
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGGGGATAGACGGATGG	162
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAGTGGATAAACGGATGG	163
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAACGATGG	164
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAGTGGATAAACGATGG	165
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAAACGGTGG	130
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGTGGATAAACGATGG	166

Subclón	Isotipo Ab	Secuencias de cebadores			SEQ ID NO
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAACGATGG	167
				CCCAAGCTTCCAGGGACCATGGATAAACGGGTGG	168
		Cebadores VK	5'	ACTAGTCGACATGGGCATCAAGATGAAGTCACATACTCTGG	169
				ACTAGTCGACATGGGCATCAAGATGAGTCACATACTCTGG	170
				ACTAGTCGACTGGGCATCAGATGAGTCACATACTCTGG	171
				ACTAGTCGACATGGGCATCAAGATGAAGTCACAGACCCAGG	172
				ACTAGTCGACATGGGCTTCAAGATGAAGTCACATTCTCTGG	173
				ACTAGTCGACATGGGCTTCAAGATGAAGTCACATATTCAGG	174
				CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
A4–2A1–40	IgG2b	Cebadores VH	5'	GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTCATCCTCTT	139
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTTTTCCTCTT	154
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTCTTTCTCTT	155
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTTTTCCTCTT	127

080180

Subclón	Isotipo Ab	Secuencias de cebadores			SEQ ID NO
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTCTTTCTCTT	121
				ACTAGTCGACATGGATGGAGCTTATCATCCTCTT	175
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAAACGCTGG	176
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAAACCGGTGG	147
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAAACGATGG	129
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAGTGGATAAACGGGTGG	177
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAACGGGTGG	128
		Cebadores VK	5'	ACTAGTCGACATGAGGTACTCGGCTCAGTTCCTGGG	178
				ACTAGTCGACATGAGGTCCCCGGCTCAGTTCCTGGG	179
				ACTAGTCGACATGAGGACGTCGATTCAGTTCTTGGG	180
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
A6–2G5–41	IgG2b	Cebadores VH	5'	GGGAATTCATGGAATGGACCTGGGTCATCCTCTT	181
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTTTTTCTCTT	120
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTTATCCTCTT	182

CU01181

182

Subclón	Isotipo Ab	Secuencias de cebadores			SEQ ID NO
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTTATTCTCTT	124
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTCTTCCTCTT	126
				GGGAATTCATGAATGGATCTGGGTTATTCTCTT	183
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGACCAGGGGATAAACGGGTGG	184
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGACGGGTGG	185
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAAACAGATGG	186
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAAACGGATGG	144
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGGGGATAAACGGATGG	145
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAAACGGGTGG	187
		Cebadores VK	5'	GGGAATTCATGGAGACACATTCCCAGGTCTTT	188
				GGGAATTCATGGAGTCACAGTCTCAGGTCTTT	189
				ACTAGTCGACATGGGCTTCAAGATGGAGTCACATTTTCAGG	190
				ACTAGTCGACATGGGCATCAAGATGAAGTCACATATTCAGG	191
				ACTAGTCGACATGGGCTTCAAGATGAAGTCACATTCTCAGG	192

6,018,032

Subclón	Isotipo Ab	Secuencias de cebadores			SEQ ID NO
				CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
A4–4A6–48	IgG2b	Cebadores VH	5'	ACTAGTCGACATGGGATGGAGCTTATCATGTTCTT	193
				ACTAGTCGACATGGGATGGAGCTTATCATGCTCTT	194
				GGGAATTCATGGAATGCACCTGGGTTTTCCTCTT	137
				GGGAATTCATGGAATGGACCTGGGTTTTCCTCTT	195
				GGGAATTCATGGAATGGACCTGGGTCTTTCTCTT	196
				GGGAATTCATGAAATGGAGCTGGGTTATTCTCTT	197
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTTATTCTCTT	151
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTCTTTCTCTT	121

Subclón	Isotipo Ab	Secuencias de cebadores			SEQ ID NO
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAGACGATGG	198
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAGACGGATGG	199
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAGACGATGG	200
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAACGGTGG	141
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGTGGATAAACGATGG	166
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAAACGGATGG	131
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAAACGGATGG	144
		Cebadores VK	5'	ACTAGTCGACATGATGTACCCGGCTCAGTTTCTGGG	201
				ACTAGTCGACATGAGGACTTCGATTCAGTTCTTGGG	202
				ACTAGTCTACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	203
				ACTAGTCGACATGAAGTTGTCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	204
				ACTAGTCGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	50
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
A4–4A6–18	IgG2b	Cebadores	5'	ATGGGATGGAGCTRTATCATSYTCTT	205

Subclón	Isotipo Ab	Secuencias de cebadores			SEQ ID NO
		VH		ATGAAGWTGTGGBTRAACTGGRT	206
				ATGGRATGGASCKKIRTCTTTMTCT	207
			3'	CCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	208
		Cebadores VK	5'	ATGGAGACAGACACACTCCTGCTAT	209
				ATGGAGWCAGACACACTSCTGYTATGGGT	210
				ATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	211
				ATGGATTTWCARGTGCAGATTWTCAGCTT	212
				ATGGTYCTYATVTCCTTGCTGTTCTGG	213
				ATGGTYCTYATVTTRCTGCTGCTATGG	214
			3'	ACTGGATGGTGGGAAGATGGA	215
A6–1D2–12	IgG2a	Cebadores VH	5'	ATGAAATGCAGCTGGRTYATSTTCTT	216
				ATGGRCAGRCTTACWTYYTCATTCCT	217
				ATGATGGTGTTAAGTCTTCTGTACCT	218
			3'	CCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	208

Subclón	Isotipo Ab	Secuencias de cebadores			SEQ ID NO
		Cebadores VK	5'	ATGRAGWCACAKWCYCAGGTCTTT	219
				ATGGAGACAGACACACTCCTGCTAT	209
				ATGGAGWCAGACACACTSCTGYTATGGGT	210
				ATGAGGRCCCCTGCTCAGWTTYTTGGIWTCTT	220
				ATGGGCWTCAAGATGRAGTCACAKWYYCWGG	221
				ATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	211
				ATGGATTTWCARGTGCAGATTWTCAGCTT	212
				ATGGTYCTYATVTCCTTGCTGTTCTGG	213
				ATGGTYCTYATVTTRCTGCTGCTATGG	214
			3'	ACTGGATGGTGGGAAGATGGA	215

Codones degenerados:

R	= A o G	S	= C o G	D	= A o G o T	B	= C o G o T
Y	= C o T	M	= A o C	H	= A o C o T		
K	= G o T	W	= A o T	V	= A o G o C		

5

Tabla 13. Isoforma más larga de Tau humana (441aa), también denominada Tau40

Isoforma más larga de Tau humana (441aa), también denominada Tau40 (SEQ ID NO: 67) Isoforma 2 de proteína Tau asociada con microtúbulos [Homo sapiens] Secuencia de referencia NCBI: NP_005901.2	MAEPRQEFEV MEDHAGTYGL GDRKDQGGYT MHQDQEGDTD AGLKESPLQT PTEDGSEEPG SETSDAKSTP TAEDVTAPLV DEGAPGKQAA AQPHTEIPEG TTAEEAGIGD TPSLEDEAAG HVTQARMVSK SKDGTGSDDK KAKGADGKTK IATPRGAAPP GQKGQANATR IPAKTPPAPK TPPSSGEPPK SGDRSGYSSP GSPGTPGSRS RTPSLPTPPT REPKKVAVVR TPPKSPSSAK SRLQTAPVPM PDLKNVKSKI GSTENLKHQP GGGKVQIINK KLDLSNVQSK CGSKDNIKHV PGGGSVQIVY KPVDLSKVTS KCGSLGNIHH KPGGGQVEVK SEKLDFKDRV QSKIGSLDNI THVPGGGNKK IETHKLTFRE NAKAKTDHGA EIVYKSPVVS GDTSPRHLSN VSSTGSIDMV DSPQLATLAD EVSASLAKQG L (SEQ ID NO: 67)

REFERENCIAS

Alonso A.D., et al. (1997), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 94, 298–303

Alving et al. (1992) Infect. Immun. 60:2438–2444

Asuni et al., (2007) J Neurosc. 27 (34), 9115–29

Braak H., et al. (1993), Eur. Neurol., 33, 403–408

Gill et al., Nature Med. 9: 589–595 (2003)

Greenberg S.G., et al. (1992), J. Biol. Chem., 267, 564–569.

Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory, New York 1988 555–612

Hodgson et al. (1991) Bio/Technoloy, 9:421

Hoffmann R., et al (1997), Biochemistry, 36, 8114–8124.

Kabat EA, Wu TT, Perry HM, Gottesman KS, Foeller C. *Sequences of proteins of Immunological Interest,* US Department of Health and Human Services, 1991

Kennedy, J. H., et al., 1976 (Clin. Chim. Acta 70:1–31)

Khaw, B. A. et al. (1982) J. Nucl. Med. 23:1011–1019

Lewis et al., (2000) Nature Genetics, 25 :402–405

Masliah et al., (2005) Neuron, 46(6), 857–68

Masliah et al., (2011) PLoS ONE, Volume 6(4), e19338, pp– 1–17

Muhs et al., (2007) Proc Natl Acad Sci USA, 104(23), 9810–5

Muyllaert et al, (2006) Rev Neurol, 162(10), 903–907

Muyllaert et al, (2008) Genes Brain Behav., Suppl. 1, 57–66

Neuwelt, E. A., Implication of the Blood–Brain Barrier and its Manipulation, Vols 1 & 2, Plenum Press, N. Y. (1989))

Nicolau et. al. (2002) Proc Natl. Acad. Sci USA 99, 2332–2337

Nicoll et al., (2003) Nature Med, 9, 448–452

Oddo et al., (2004) Neuron, 43, 321–332

Queen et al.,(1989) Proc. Natl Acad Sci USA, 86:10029–10032

Papanastassiou et al., Gene Therapy 9: 398–406 (2002)

Reig S., et al. (1995), Acta Neuropathol., 90, 441–447

Ribe et al., (2005) Neurobiol Dis, 20(3), 814–22

Roberson et al, (2007) Science, 316 (5825), 750–4

Rosenmann et al., (2006) Arch Neurol, 63(10), 1459–67

Rousseaux et al. Methods Enzymology, (1986) , Academic Press 121:663–69

Schurs, A. H. W. M., et al. 1977 {Clin. Chim Acta 57:1–40

Terwel et al., (2006) J Biol Chem, 280, 3963–3973

Terwel et al, (2008) Am J pathol., 172(3), 786–98

Urushitiani et al., (2007) Proc. Natl Acad Sci USA, 104(79, 2495–500

Vandebroek et al., "*Phosphorylation and Aggregation of Protein Tau in Humanized Yeast Cells and in Transgenic Mouse Brain*"; 7th International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Disease, Sorrento, Italy, March 9–13, 2005, pp 15–19
Wagner et al (2002) Journal of Liposome Research Vol 12(3), pp 259 – 270

WO 2004/058258
WO 96/13590
WO 96/29605
Publicación de patente U.S. N.º 2002/0038086
Publicación de patente U.S. N.º 2003/0083299
Publicación de patente U.S. N.º 2002/0025313
Publicación de patente U.S. N.º 2004/0204354
Publicación de patente U.S. N.º 2004/0131692
Publicación de patente U.S. N.º 2002/0065259
Publicación de patente U.S. N.º 2003/0162695
Publicación de patente U.S. N.º 2005/0124533
Publicación de patente U.S. N.º 2005/0089473
Publicación de patente U.S. N.º 2003/0073713
Publicación de patente U.S. N.º 2003/0129186
Patente U.S. N.º 5.112.596
Patente U.S. N.º 5.268.164
Patente U.S. N.º 5.506.206
Patente U.S. N.º 5.686.416
Patente U.S. N.º 5.004.697

REIVINDICACIONES SOLICITUD DIVISIONAL

1. Un anticuerpo, o una de sus partes funcionales que reconoce y se une específicamente con un fosfo–epítope en la proteína tau de mamífero o en uno de sus fragmentos, en donde dicho anticuerpo o fragmento de anticuerpo tiene una alta afinidad de unión con la proteína tau soluble e insoluble y modula los niveles tau solubles e insolubles.

2. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 o uno de sus fragmentos funcionales, en donde dicho anticuerpo o fragmento de anticuerpo se une con un epítope seleccionado del grupo que consiste en Tau aa 15–20 que comprende una Tyr fosforilada en la posición 18 (Y18), Tau aa 405–412 que comprende una Ser fosforilada en la posición 409 (pS409), Tau aa 405–411 que comprende una Ser fosforilada en la posición 409 (pS409); Tau aa 208–218 que comprende una Thr fosforilada en la posición 212 (pT212) y una Ser fosforilada en la posición (pS214); Tau aa 393–401 que comprende una Ser fosforilada en la posición 396 (pS396), Tau aa 396–401 que comprende una Ser fosforilada en la posición 396 (pS396), Tau aa 394–400 que comprende una Ser fosforilada en la posición 396 (pS396), Tau aa 402–406 que comprende una Ser fosforilada en la posición 404 (pS404), y Tau aa 393–400 que comprende una Ser fosforilada en la posición 396 (pS396).

3. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones precedentes o uno de sus fragmentos funcionales, que comprende un primer dominio de unión que contiene, en particular en secuencia, un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 21, 24, 27, 28, 29, 32, 73, 81, 93, 101, 106, o una secuencia de aminoácido al menos 70%, en particular al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica; u. CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 22, 25, 30, 33, 74, 82, 94, 102, 107, o una secuencia de aminoácido al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 23, 26, 31, 34, 75, 83, 95, 103. 108, o una secuencia de aminoácido al menos 60%, en particular al menos 70%, en particular al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica y/o un segundo dominio de unión que contiene en secuencia un CDR1 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12, 15, 18, 70, 78, 89,

98, o una secuencia de aminoácido al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica; un CDR2 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 13, 16, 19, 71, 79, 90, 99, 115, o una secuencia de aminoácido al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%,en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica y un CDR3 con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 14, 17, 20, 72, 80, 91, 100, o una secuencia de aminoácido al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, en particular al menos 85%, en particular al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%,en particular al menos 95%, en particular al menos 96%, en particular al menos 97%, en particular al menos 98%, en particular al menos 99% o 100% idéntica.

4. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones precedentes o uno de sus fragmentos funcionales que comprende

a. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 1; o

b. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 7 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 1; o

c. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 2; o

d. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 9 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 3; o

e. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 10 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4; o

f. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 11 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 5; o

g. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 69 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 68; o

h. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 77 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 76; o

i. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 116 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 88; o

j. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 92 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 88; o

k. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 97 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6; o

l. un primer dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 105 y/o un segundo dominio de unión que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 104.

5. Un polinucleótido que codifica el anticuerpo cualquiera de las reivindicaciones precedentes o uno de sus fragmentos funcionales.

6. El polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 5 que comprende una molécula de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en

a. una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos tal como se indica en SEQ ID NOs: 35–45;

b. una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos el 85% de identidad de secuencia con la secuencia mostrada en SEQ ID NOs: 35–45, SEQ ID NOs: 84–87, SEQ ID NO: 109–112 y 117–119;

c. una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos el 90% de identidad de secuencia con la secuencia mostrada en SEQ ID NOs: 35–45; SEQ ID NOs: 84–87, SEQ ID NO: 109–112 y 117;

d. una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos el 95% de identidad de secuencia con la secuencia mostrada en SEQ ID NOs: 35–45; SEQ ID NOs: 84–87, SEQ ID NO: 109–112 y 117–119;

e. una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos el 98% de identidad de secuencia con la secuencia mostrada en SEQ ID NOs: 35–45; SEQ ID NOs: 84–87, SEQ ID NO: 109–112 y 117–119;

f. una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos cuya cadena complementaria hibrida en la molécula de ácidos nucleicos de cualquiera de a) – f);

g. una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que se desvía de la secuencia de nucleótidos definida en cualquiera de a) – g) por degeneración del código genético:

en donde dicha molécula de ácido nucleico tal como se define en cualquiera de a) – g) reconoce y específicamente se une con un fosfo–epítope en un mamífero, en

particular en la proteína humana Tau o en uno de sus fragmentos, en particular a un confórmero de proteína tau patológica, pero no se une con el correspondiente epítope no fosforilado y/o con epítopes no relacionados, en donde dicho anticuerpo tiene una alta afinidad de unión con la proteína tau agregada, y modula los niveles de tau soluble e insoluble.

7. Una composición farmacéutica que comprende un péptido o una proteína de unión, un anticuerpo o uno de sus fragmentos funcionales o un polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, o una combinación de ellos, en una cantidad terapéuticamente efectiva junto con un portador farmacéuticamente aceptable.

8. Un método de diagnosis de una enfermedad, trastorno o condición asociados con la proteína tau en un paciente que comprende detectar la unión inmunoespecífica de un anticuerpo o uno de sus fragmentos activos a un epítope de la proteína tau en una muestra o in situ que incluye las etapas de

a. poner en contacto la muestra o una parte del cuerpo específica o área corporal sospechada de contener la proteína tau con un anticuerpo o uno de sus fragmentos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, cuyo péptido o su fragmento se une con un epítope de la proteína tau;

b. permitir que el anticuerpo se una con la proteína tau para formar un complejo inmunológico;

c. detectar la formación del complejo inmunológico; y

d. correlacionar la presencia o ausencia del complejo inmunológico con la presencia o ausencia de la proteína tau en la muestra o parte o área específica del cuerpo.

9. Un método de diagnosis de una predisposición a una enfermedad, trastorno o condición asociado a la proteína tau en un paciente que comprende detectar la unión inmunoespecífica de un anticuerpo o uno de sus fragmentos activos a un epítope de la proteína tau en una muestra o in situ que incluye las etapas de

a. poner en contacto la muestra o una parte corporal o área corporal específicas sospechadas de contener el antígeno tau con un anticuerpo o uno de sus fragmentos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, cuyo péptido o su fragmento se une con un epítope de la proteína tau;

b. permitir que el anticuerpo se una con el antígeno tau para formar un complejo inmunológico;

c. detectar la formación del complejo inmunológico; y

d. correlacionar la presencia o ausencia del complejo inmunológico con la presencia o ausencia de antígeno tau en la muestra o parte o área específica del cuerpo,

e. comparar la cantidad de dicho complejo inmunológico a un valor de control normal,

en donde un aumento en la cantidad de dicho agregado en comparación con un valor de control normal indica que dicho paciente padece o está en riesgo de desarrollar una enfermedad o condición asociados con la proteína Tau.

10. Un método de control de una enfermedad residual mínima en un paciente después del tratamiento con un anticuerpo o una composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende:

a. poner en contacto la muestra o una parte corporal o área corporal específicas sospechadas de contener el antígeno tau con un anticuerpo o uno de sus fragmentos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, cuyo péptido o su fragmento se une con un epítope de la proteína tau;

b. permitir que el anticuerpo se una con el antígeno tau para formar un complejo inmunológico;

c. detectar la formación del complejo inmunológico; y

d. correlacionar la presencia o ausencia del complejo inmunológico con la presencia o ausencia de antígeno tau en la muestra o parte o área específica del cuerpo,

e. comparar la cantidad de dicho complejo inmunológico a un valor de control normal,

en donde un aumento en la cantidad de dicho agregado en comparación con un valor de control normal indica que dicho paciente todavía padece de una enfermedad residual mínima.

11. Un método para predecir la respuesta de un paciente en tratamiento con un anticuerpo o una composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes que comprende

a. poner en contacto la muestra o una parte corporal o área corporal específicas sospechadas de contener el antígeno tau con un anticuerpo o uno de sus fragmentos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, cuyo péptido o su fragmento se une con un epítope de la proteína tau;

b. permitir que el anticuerpo se una con el antígeno tau para formar un complejo inmunológico;

c. detectar la formación del complejo inmunológico; y

d. correlacionar la presencia o ausencia del complejo inmunológico con la presencia o ausencia de antígeno tau en la muestra o parte o área específica del cuerpo,

e. comparar la cantidad de dicho complejo inmunológico antes y después del inicio del tratamiento,

en donde una disminución de la cantidad de dicho agregado indica que dicho paciente tiene un alto potencial de responder al tratamiento.

12. Kits de ensayo para la detección y diagnosis de enfermedades, trastornos o condiciones asociadas con la proteína Tau que comprenden un anticuerpo de acuerdo con cualquier reivindicación precedente.

13. Una línea celular que produce un anticuerpo de acuerdo con cualquier reivindicación precedente.

14. Una línea celular que comprende el polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 5 ó 6.

15. Un método para producir el anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende el paso de cultivo de la línea celular de acuerdo con la reivindicación 13 en un medio de cultivo adecuado.

RESUMEN

La presente invención se refiere a métodos y composiciones para el uso terapéutico y de diagnóstico en el tratamiento de enfermedades y trastornos que son causados por ovillos neurofibrilares o están asociados con ellos. En particular, la invención se refiere a anticuerpos, que específicamente reconocen y se unen a conformadores de proteína tau patológicos fosforilados y con métodos y composiciones que incluyen dichos anticuerpos para el uso terapéutico y diagnóstico en el tratamiento de tauopatías entre las que encuentra la enfermedad de Alzheimer (EA).

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> AC Immune S.A.
K.U. Leuven Research & Development

<120> COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA

<130> P2654 PCT/A BS

<150> EP 10 18 6810.7
<151> 07-10-2010
<150> EP 11 17 4248.2
<151> 15-07-2011

<160> 221

<170> BiSSAP 1.0

<210> 1
<211> 115
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..115
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 1
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Ile Asn Pro Asn Arg Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ser Tyr Tyr Ala Val Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 2
<211> 115
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..115
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 2
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Ile Asn Pro Asn Arg Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ser Tyr Tyr Ala Val Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 3
<211> 115
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..115
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 3
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Ile Asn Pro Asn Arg Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ser Tyr Tyr Ala Val Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 4
<211> 120
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..120
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 4
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Pro Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Gly Asp Thr Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Gly Gln Leu Arg Leu Arg Leu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 5
<211> 119
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..119
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 5
Glu Val Lys Leu Met Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Tyr Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Pro Glu Trp Leu
35 40 45
Ala Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Thr Ala

50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Gln Asn Ile
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Thr Tyr
85 90 95
Tyr Cys Val Lys Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly
100 105 110
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 6
<211> 113
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..113
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 6
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Met Ser Val Gly
1 5 10 15
Gln Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Asn Ser
20 25 30
Gly Asn Gln Lys Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Ser Pro Lys Leu Leu Val Tyr Phe Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Glu
85 90 95
His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110
Lys

<210> 7
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 7

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

<210> 8
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 8
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30
His Gly Lys Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Thr
85 90 95
Ala His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 9
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"

/organismo="Mus musculus"

<400> 9
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30
His Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Thr
85 90 95
Ala His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 10
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..107
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 10
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 11
<211> 113
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>

<221> FUENTE
<222> 1..113
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 11
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 12
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..10
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 12
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Asn
1 5 10

<210> 13
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 13
Asp Ile Asn Pro Asn Arg Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15
Gly

<210> 14
<211> 6
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..6
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 14
Tyr Tyr Ala Val Gly Tyr
1 5

<210> 15
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..10
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 15
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Gly Met His
1 5 10

<210> 16
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 16
Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Gly Asp Thr Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 17
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..11
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 17
Arg Gly Gln Leu Arg Leu Arg Leu Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 18
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..10
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 18
Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Ser
1 5 10

<210> 19
<211> 19
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..19
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 19
Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Thr Ala Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..8
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 20
Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp Val
1 5

<210> 21
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 21
Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Ser Leu
1 5 10 15
Ala

<210> 22
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..7
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 22
Phe Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9

<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 23
Gln Glu His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 24
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 24
Arg Ser Ser Gln Arg Leu Val His Ser His Gly Lys Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 25
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..7
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 25
Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 26
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 26
Ser Gln Thr Ala His Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 27
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 27
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser His Gly Lys Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 28
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 28
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser His Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 29
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..11
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 29
Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 30
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..7
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 30
Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
1 5

<210> 31
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 31
Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 32
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 32
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Ala

<210> 33
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..7
<223> /tipo_mol="proteína"

/organismo="Mus musculus"

<400> 33
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 34
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 34
Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 35
<211> 345
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..345
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 35
gaggtccagc tgcaacaatc tggacctgaa ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60

tcctgtaagg cttctggata tacgttcact gactactaca tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga gccttgagtg gattggagat attaatccta accgtggtgg aactacttac 180

aaccagaagt tcaagggcaa ggccacgttg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atggaactcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagttactac 300

gccgtgggct actggggcca aggcaccact ctcacagtct cctca 345

<210> 36
<211> 345
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..345
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 36
gaggtccagc tgcaacaatc tggacctgaa ctggtgaagc ctgggacttc agtgaagata 60

tcctgtaagg cttctggata tacgttcact gactactaca tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga gccttgagtg gattggagat attaatccta accgtggtgg aactacttac 180

aaccagaagt ttaagggcaa ggccacgttg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atggaactcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagttactac 300

gccgtgggct actggggcca aggcaccact ctcacagtct cctca 345

<210> 37
<211> 345
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..345
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 37
gaggtccagc tgcaacaatc tggacctgaa ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60

tcctgtaagg cttctggata cacgttcact gactactaca tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga gccttgagtg gattggagat attaatccta accgtggtgg aactacttac 180

aaccagaagt tcaagggcaa ggccacgttg actgtagaca cgtcctccag cacagcctac 240

atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagttactac 300

gccgtgggct actggggcca aggcaccact ctcacagtct cctca 345

<210> 38
<211> 360
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>

<221> FUENTE
<222> 1..360
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 38
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc 60

tcctgtgcac cctctggatt cactttcagt gactatggaa tgcactgggt tcgtcaggct 120

ccagagaagg gactggagtg ggttgcatac attagtagtg gcagtagtac catctactat 180

ggagacacag tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgttc 240

ctgcaaatga ccagtctgag gtctgaggac acggccatgt attactgtgc aagaagggga 300

cagctcaggc tacgcctgtt tgcttactgg ggccaaggga ctctggtcac tgtctctgca 360

<210> 39
<211> 357
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..357
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 39
gaggtgaagc tgatggaatc tggaggaggc ttggtacacc ctggggcttc tctgagactc 60

tactgtgcag cttctggatt cacctttact gattactaca tgagctgggt ccgccagcct 120

ccagggaagg cacctgagtg gttggctttg attagaaaca aagctaatgg ttacacaaca 180

gagtatactg catctgttaa ggctcggttc accatctcca gagataattc ccaaaacatc 240

ctctatcttc aaatgaacac cctgagggct gaggacagtg ccacttatta ctgtgtaaaa 300

gctctgggac gttacttcga tgtctggggc acagggacca cggtcaccgt ctcctca 357

<210> 40
<211> 339
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE

<222> 1..339
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 40
gacattgtga tgacacagtc tccatcctcc ctggctatgt cagtaggaca gaaggtcact 60

atgagctgca agtccagtca gagtgttttt aatagtggca atcaaaagaa ctctttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg acagtctcct aaacttctgg tatactttgc atccactagg 180

gaatctgggg tccctgatcg cttcataggc agtggatctg ggacagattt cagtcttacc 240

atcagcagtg tgcaggctga ggacctggca gattacttct gtcaggaaca ttataccact 300

cctcccacgt tcggtactgg gaccaagctg gagctgaaa 339

<210> 41
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 41
gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gaggcttgta cacagtcatg gaaaaaccta tttacattgg 120

tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccggttt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgtt ctcaaactgc acattttccg 300

tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 42
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336

<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 42
gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtcatg gaaaaaccta tttacattgg 120

tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccggttt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgtt ctcaaactgc acattttccg 300

tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 43
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 43
gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagccttcta cacagtcatg gaaacaccta tttacattgg 120

tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccggttt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaactgc acattttccg 300

tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 44
<211> 321
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..321
<223> /tipo_mol="ADN"

/organismo="Mus musculus"

<400> 44
gacattgtga tgacccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

atcacctgca aggccagtca ggatgtgagt actgctgtag cctggtatca acagaaacca 120

ggacaatctc ctaaactact gatttactcg gcatcctacc ggtacactgg agtccctgat 180

cgcttcactg gcagtggatc tgggacggat ttcactttca ccatcagcag tgtgcaggct 240

gaagacctgg cagtttatta ctgtcagcaa cattatacta ctccgctcac gttcggtgct 300

gggaccaagc tggagctgaa a 321

<210> 45
<211> 339
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..339
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 45
gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctagctgtgt cagttggaga gaaggttact 60

atgagctgca agtccagtca gagcctttta tatagtagca atcaaaagaa ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgctga tttactgggc atccactagg 180

gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagtg tgaaggctga agacctggca gtttattact gtcagcaata ttatagctat 300

ccattcacgt tcggctcggg gacaaagttg gaaataaaa 339

<210> 46
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"

/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 46
gggaattcat graatgsasc tgggtywtyc tctt 34

<210> 47
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<220>
<221> variación
<222> 30..30
<223> /reemplazo="n=i"

<400> 47
cccaagcttc cagggrccar kggataracn grtgg 35

<210> 48
<211> 32
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..32
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 48
gggaattcat gragwcacak wcycaggtct tt 32

<210> 49
<211> 41
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..41

<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 49
actagtcgac atgggcwtca agatgragtc acakwyycwg g 41

<210> 50
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..39
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 50
actagtcgac atgaagttgc ctgttaggct gttggtgct 39

<210> 51
<211> 30
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..30
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 51
cccaagctta ctggatggtg ggaagatgga 30

<210> 52
<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..36
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 52
actagtcgac atgggatgga gctrtatcat sytctt 36

<210> 53
<211> 33
<212> ADN
<213> artificial seuqence

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..33
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="artificial seuqence"

<400> 53
gggaattcat grasttskgg ytmarctkgr ttt 33

<210> 54
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..39
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 54
actagtcgac atggactcca ggctcaattt agttttcct 39

<210> 55
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..33
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 55
actagtcgac atgaagwtgt ggbtraactg grt 33

<210> 56
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..39
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<220>
<221> característica_misc
<222> 27..27
<223> /nota="n=i"

<400> 56
actagtcgac atggagwcag acacacnsct gytatgggt 39

<210> 57
<211> 37
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..37
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 57
actagtcgac atggtyctya tvttrctgct gctatgg 37

<210> 58
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..30
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of artifiial sequence: ACI-37"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<220>
<221> VARIANT
<222> 18..18
<223> serina fosforilada

<220>
<221> VARIANT
<222> 26..26
<223> serina fosforilada

<400> 58
Arg Glu Asn Ala Lys Ala Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr
1 5 10 15
Lys Ser Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu
20 25 30

<210> 59
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of Secuencia Artificial: ACI-33"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<220>
<221> VARIANT
<222> 14..14
<223> serina fosforilada

<400> 59
Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly Thr Tyr Gly Leu
1 5 10 15

<210> 60
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of Secuencia Artificial: ACI-39"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<220>
<221> VARIANT

<222> 7..7
<223> treonina fosforilada

<220>
<221> VARIANT
<222> 9..9
<223> serina fosforilada

<400> 60
Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg
1 5 10 15

<210> 61
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of Secuencia Artificial: ACI-39"
/organismo="Secuencia Artificial"

<220>
<221> VARIANT
<222> 7..7
<223> serina fosforilada

<220>
<221> VARIANT
<222> 10..10
<223> treonina fosforilada

<400> 61
Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Arg Ser Arg
1 5 10 15

<210> 62
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of Secuencia Artificial: ACI-35"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<220>

<221> VARIANT
<222> 4..4
<223> serina fosforilada

<220>
<221> VARIANT
<222> 12..12
<223> serina fosforilada

<400> 62
Val Tyr Lys Ser Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu
1 5 10 15

<210> 63
<211> 18
<212> PRT
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..18
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of Secuencia Artificial: ACI-36"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<220>
<221> VARIANT
<222> 4..4
<223> serina fosforilada

<220>
<221> VARIANT
<222> 9..9
<223> serina fosforilada

<400> 63
Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser
1 5 10 15
Ile Asp

<210> 64
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of Secuencia Artificial: ACI-34"

/organismo="Secuencias Artificiales"

<220>
<221> VARIANT
<222> 3..3
<223> serina fosforilada

<220>
<221> VARIANT
<222> 6..6
<223> treonina fosforilada

<220>
<221> VARIANT
<222> 13..13
<223> treonina fosforilada

<220>
<221> VARIANT
<222> 15..15
<223> serina fosforilada

<400> 64

Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu
1 5 10 15
Pro

<210> 65
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..12
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of Secuencia Artificial: ACI-42"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<220>
<221> VARIANT
<222> 3..3
<223> serina fosforilada

<400> 65
His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser Ile Asp
1 5 10

<210> 66

<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..10
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of Secuencia Artificial: ACI-43"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<220>
<221> VARIANT
<222> 6..6
<223> serina fosforilada

<400> 66
Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu
1 5 10

<210> 67
<211> 441
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..441
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Homo sapiens"

<400> 67
Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly
1 5 10 15
Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His
20 25 30
Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu
35 40 45
Gln Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly Ser Glu Thr Ser
50 55 60
Asp Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Glu Asp Val Thr Ala Pro Leu Val
65 70 75 80
Asp Glu Gly Ala Pro Gly Lys Gln Ala Ala Ala Gln Pro His Thr Glu
85 90 95
Ile Pro Glu Gly Thr Thr Ala Glu Glu Ala Gly Ile Gly Asp Thr Pro
100 105 110
Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val Thr Gln Ala Arg Met Val
115 120 125
Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp Asp Lys Lys Ala Lys Gly
130 135 140
Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro Arg Gly Ala Ala Pro Pro

145 150 155 160
Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg Ile Pro Ala Lys Thr Pro
165 170 175
Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly Glu Pro Pro Lys Ser Gly
180 185 190
Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser
195 200 205
Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg Glu Pro Lys
210 215 220
Lys Val Ala Val Val Arg Tnr Pro Pro Lys Ser Pro Ser Ser Ala Lys
225 230 235 240
Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu Lys Asn Val
245 250 255
Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln Pro Gly Gly
260 265 270
Gly Lys Val Gln Ile Ile Asn Lys Lys Leu Asp Leu Ser Asn Val Gln
275 280 285
Ser Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys His Val Pro Gly Gly Gly
290 295 300
Ser Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser Lys Val Thr Ser
305 310 315 320
Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro Gly Gly Gly Gln
325 330 335
Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp Arg Val Gln Ser
340 345 350
Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro Gly Gly Gly Asn
355 360 365
Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu Asn Ala Lys Ala
370 375 380
Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr Lys Ser Pro Val Val Ser
385 390 395 400
Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser
405 410 415
Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu Ala Thr Leu Ala Asp Glu Val
420 425 430
Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu
435 440

<210> 68
<211> 117
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..117
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 68
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Leu Lys Pro Gly Ala

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

<210> 69
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 69
Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Leu Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95
Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 70
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..10

<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 70
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met His
1 5 10

<210> 71
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 71
Arg Ile Asp Pro Asn Ser Asp Arg Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Arg

<210> 72
<211> 8
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..8
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 72
Asp Asp Tyr Ala Trp Phe Ala Tyr
1 5

<210> 73
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 73

Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
1 5 10 15

<210> 74
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..7
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 74
Lys Leu Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 75
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 75
Phe Gln Gly Ser His Val Pro Pro Thr
1 5

<210> 76
<211> 119
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..119
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 76
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Ser Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Ala Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Asn Gln Val
65 70 75 80
Phe Leu Lys Ile Thr Cys Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Leu Leu Arg Pro Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 77
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 77
Asn Ile Leu Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln
85 90 95
Tyr Leu Ser Ser Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 78
<211> 12
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..12
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 78
Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Ser

1 5 10

<210> 79
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 79
His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Ala Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 80
Leu Leu Arg Pro Tyr Ala Leu Asp Tyr
1 5

<210> 81
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 81
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Ala

<210> 82
<211> 7

<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..7
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 82
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 83
<211> 8
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..8
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 83
Leu Gln Tyr Leu Ser Ser Leu Thr
1 5

<210> 84
<211> 351
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..351
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 84
caggtccaac tgcagcagcc tggggctgag cttctgaagc ctggggcttc agtgaaactg 60

tcctgcaagg cttctggcta caccttcacc agctactgga tgcactgggt gaagcagagg 120

cctggacgag gccttgagtg gattggaagg attgatccta atagtgatcg tactaagtac 180

aatgagaagt tcaagcgcaa ggccacactg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attattgtgc aagggatgat 300

tacgcctggt ttgcttactg gggccaaggg actctggtca ctgtctctgc a 351

<210> 85
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 85
gatgttttga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagcattgta catagtaatg gaaacaccta tttagaatgg 120

tacctgcaga aaccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaactttc caaccgattt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tattactgct ttcaaggttc acatgttcct 300

ccgacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaa 336

<210> 86
<211> 357
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..357
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 86
caggttactc tgaaagagtc tggccctggg atattgcagt cctcccagac cctcagtctg 60

acttgttctt tctctgggtt ttcactgagc acttctggta tgggtgtgag ctggattcgt 120

cagccttcag gaaagggtct ggagtggctg gcacacattt actgggatga tgacaagcgc 180

tataacgcat ccctgaagag ccggctcaca atctccaagg atacctccag aaaccaggta 240

ttcctcaaga tcacctgtgt ggacactgca gatactgcca catactactg tgctcggtta 300

ctgcgtcctt atgctttgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcctca 357

<210> 87
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 87
aacattttga tgacacagtc gccatcatct ctggctgtgt ctgcaggaga aaaggtcact 60

atgagctgta agtccagtca aagtgtttta tacagttcaa atcagaagaa ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgctga tctactgggc atccactagg 180

gaatctggtg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt tactcttacc 240

atcagcagtg tacaagctga agacctggca gtttattact gtcttcaata cctctcctcg 300

ctcacgttcg gtgctgggac caagctggag ctgaaa 336

<210> 88
<211> 115
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..115
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 88

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

85 90 95
Val Arg Glu Gly Arg Phe Ala Tyr Trp Gly His Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ala
115

<210> 89
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..10
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 89
Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Asn
1 5 10

<210> 90
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 90
Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 91
<211> 6
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..6
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 91
Glu Gly Arg Phe Ala Tyr

1 5

<210> 92
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> SITE
<222> 3..3
<223> Xaa is Met or Val

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 92
Asp Ile Xaa Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Phe Thr Leu Arg Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
85 90 95
Leu Lys Ser Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 93
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 93
Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 94
<211> 7

<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..7
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 94
Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 95
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 95
Met Gln His Leu Lys Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 96
<211> 115
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..115
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 96
Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Ala Arg Ile Tyr Pro Gly Arg Gly Asn Ile Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Glu Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95
Ala Arg Phe Trp Asp Val Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ala
115

<210> 97
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 97
Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95
Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 98
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..10
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 98
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Ile Asn
1 5 10

<210> 99
<211> 17
<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 99
Arg Ile Tyr Pro Gly Arg Gly Asn Ile Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 100
<211> 6
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..6
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 100
Phe Trp Asp Val Thr Tyr
1 5

<210> 101
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 101
Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
1 5 10 15

<210> 102
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE

8C2000 000238

<222> 1..7
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 102
Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 103
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 103
Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 104
<211> 115
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..115
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 104
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr His Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Glu Gly Arg Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ala
115

<210> 105
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..107
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 105
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 106
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..11
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 106
Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala
1 5 10

<210> 107
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..7

<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 107
Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
1 5

<210> 108
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 108
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 109
<211> 345
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..345
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 109
gaggtccagc tgcaacaatc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60

tcctgtaagg cttctggata cacgttcact gactactaca tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga gccttgagtg gattggagat attaatccta acaatggtgg tactagctac 180

aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atggagctcc gcagtctgac atctgaggac tctgcagtct attattgtgt aagagagggg 300

cggtttgctt actggggtca tgggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 110
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 110
gatattrtga tgactcaggc tgcaccctct gtacctgtca ctcctggaga gtcagtatcc 60

atctcctgca ggtctagtaa gagtctcctg catagtaatg gcaacactta cttgtattgg 120

ttcctgcaga ggccaggcca gtctcctcag ctcctgatat atcggatgtc caaccttgcc 180

tcaggagtcc cagacaggtt cagtggcagt gggtcaggaa ctgctttcac actgagaatc 240

agtagagtgg aggctgagga tgtgggtgtt tattactgta tgcaacatct aaaatctccg 300

tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 111
<211> 345
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..345
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 111
caggtccagc tgaagcagtc tggggctgag ctggtgaggc ctggggcttc agtgaaactg 60

tcctgcaagg cttctggcta cactttcact gactactata taaactgggt gaagcagagg 120

cctggacagg gacttgagtg gattgcaagg atttatcctg gaagaggtaa tatttactac 180

aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actgcagaaa aatcctccag cactgcctac 240

atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagattctgg 300

gacgtgactt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 112
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 112
gatgttttga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagcattgta catagtaatg gaaacaccta tttagaatgg 120

ttcctgcaga aaccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccgattt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tattactgct ttcaaggttc acatgttccg 300

tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 113
<211> 345
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..345
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 113
gaggtccagc tgcaacaatc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60

tcctgtaagg cttctggatt cacgttcact gactactaca tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga gccttgagtg gattggagat attaatccta acaatggtgg tactagctac 180

caccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgt aagagaggga 300

agatttgctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 114
<211> 321
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>

<221> FUENTE
<222> 1..321
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 114
gacattgtga tgacccagtc tcaaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

gtcacctgca aggccagtca gaatgtgggt actaatgtag cctggtatca acagaaacca 120

gggcaatctc ctaaagcact gatttactcg gcatcctacc ggtacagtgg agtccctgat 180

cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcaa tgtgcagtct 240

gaagacttgg cagagtattt ctgtcagcaa tataacagct atccgtacac gttcggaggg 300

gggaccaagc tggaaataaa a 321

<210> 115
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 115
Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr His Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 116
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 116
Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser

BAC
[illegible]/2009

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

<210> 117
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 117
gatattgtga tgactcaggc tgcaccctct gtacctgtca ctcctggaga gtcagtatcc 60

atctcctgca ggtctagtaa gagtctcctg catagtaatg gcaacactta cttgtattgg 120

ttcctgcaga ggccaggcca gtctcctcag ctcctgatac atcggatgtc caaccttgcc 180

tcaggagtcc cagacaggtt cagtggcagt gggtcaggaa ctgctttcac actgagaatc 240

agtagagtgg aggctgagga tgtgggtgtt tattactgta tgcaacatct aaaatctccg 300

tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 118
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 118
Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

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

<210> 119
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 119
gatattgtga tgactcaggc tgcaccctct gtacctgtca ctcctggaga gtcagtatcc 60

atctcctgca ggtctagtaa gagtctcctg catagtaatg gcaacactta cttgtattgg 120

ttcctgcaga ggccaggcca gtctcctcag ctcctgatat atcggatgtc caaccttgcc 180

tcaggagtcc cagacaggtt cagtggcagt gggtcaggaa ctgctttcac actgagaatc 240

agtagagtgg aggctgagga tgtgggtgtt tattactgta tgcaacatct aaaatctccg 300

tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 120
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<400> 120

gggaattcat ggaatgcagc tgggtttttc tctt 34

<210> 121
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<400> 121
gggaattcat ggaatggagc tgggtctttc tctt 34

<210> 122
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<400> 122
gggaattcat ggaatgcagc tgggtcattc tctt 34

<210> 123
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 123
gggaattcat ggaatggagc tgggtttttc tctt 34

<210> 124
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 124
gggaattcat ggaatggagc tgggttattc tctt 34

<210> 125
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 125
gggaattcat ggaatggagc tgggttattc tctt 34

<210> 126
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 126
gggaattcat ggaatgcagc tgggtcttcc tctt 34

<210> 127
<211> 35
<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 127
gggaattcat ggaatggagc tgggttttcc tcttc 35

<210> 128
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 128
cccaagcttc cagggaccaa tggataacgg gtgg 34

<210> 129
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 129
cccaagcttc cagggaccaa tggataaacg atgg 34

<210> 130
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 130
cccaagcttc cagggaccaa tggataaacg gtgg 34

<210> 131
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 131
cccaagcttc cagggaccaa tggataaacg gatgg 35

<210> 132
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 132
cccaagcttc cagggaccag tggatagacg ggtgg 35

<210> 133
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"

/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 133
cccaagcttc cagggaccaa gggatagatg atgg 34

<210> 134
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 134
cccaagcttc caggggccaa tggataaacg ggtgg 35

<210> 135
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 135
cccaagcttc caggggccaa tggataaacg atgg 34

<210> 136
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 136
gggaattcat ggaatggagc tgggtcattc tctt 34

<210> 137
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 137
gggaattcat ggaatgcacc tgggttttcc tctt 34

<210> 138
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 138
gggaattcat ggaatggagc tgggtcttcc tctt 34

<210> 139
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 139
gggaattcat ggaatggagc tgggtcatcc tctt 34

<210> 140
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 140
actagtcgac atgggatgag cttatcatcc tctt 34

<210> 141
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..33
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 141
cccaagcttc caggggccaa tggataacgg tgg 33

<210> 142
<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..36
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 142
cccaagcttc cagggaccag tgggataaac gggtgg 36

<210> 143
<211> 35

<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 143
cccaagcttc cagggaccaa gggatagacg ggtgg 35

<210> 144
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 144
cccaagcttc cagggaccaa gggataaacg gatgg 35

<210> 145
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 145
cccaagcttc cagggaccag gggataaacg gatgg 35

<210> 146
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 146
cccaagcttc caggggccag ggataaacgg gtgg 34

<210> 147
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 147
cccaagcttc caggggccaa tggataaacc ggtgg 35

<210> 148
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 148
cccaagcttc cagggaccag tggataaacg gtgg 34

<210> 149
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35

<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 149
actagtcgac atggtgtcca cagctcagtt ccttg 35

<210> 150
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 150
gggaattcat gaaatggagc tgggtcttcc tctt 34

<210> 151
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 151
gggaattcat ggaatgcagc tgggttattc tctt 34

<210> 152
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 152
gggaatttat ggaatggagc tgggtcttcc tctt 34

<210> 153
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 153
gggaattcat ggaatgcagc tgggtcatcc tctt 34

<210> 154
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 154
gggaattcat ggaatgcagc tgggttttcc tctt 34

<210> 155
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 155
gggaattcat ggaatgcagc tgggtctttc tctt 34

<210> 156
<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..36
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 156
actagtcgac atgggatgga gctatatcat cctctt 36

<210> 157
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 157
actagtcgac atgggatgga gcttatcatc ttctt 35

<210> 158
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..33
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 158
actagtcgac atgtagatgt ggttaaactg ggt 33

<210> 159

<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 159
cccaagcttc caggggccag gggataaacg gatgg 35

<210> 160
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 160
cccaagcttc caggggccaa gggatagacg gatgg 35

<210> 161
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 161
cccaagcttc cagggaccag gggatagacg ggtgg 35

<210> 162
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 162
cccaagcttc cagggaccag gggatagacg gatgg 35

<210> 163
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 163
cccaagcttc caggggccag tggataaacg gatgg 35

<210> 164
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..33
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 164
cccaagcttc caggggccaa tggataacga tgg 33

<210> 165
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE

<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 165
cccaagcttc caggggccag tggataaacg atgg 34

<210> 166
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 166
cccaagcttc cagggaccag tggataaacg atgg 34

<210> 167
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia Artificiai

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..33
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 167
cccaagcttc cagggaccaa tggataacga tgg 33

<210> 168
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"

/organismo="Secuen a rtificial"

<400> 168
cccaagcttc cagggaccat ggataaacgg gtgg 34

<210> 169
<211> 41
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..41
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 169
actagtcgac atgggcatca agatgaagtc acatactctg g 41

<210> 170
<211> 40
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..40
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 170
actagtcgac atgggcatca agatgagtca catactctgg 40

<210> 171
<211> 38
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..38
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 171

actagtcgac tgggcatcag atgagtcaca tactctgg 38

<210> 172
<211> 41
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..41
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 172
actagtcgac atgggcatca agatgaagtc acagacccag g 41

<210> 173
<211> 41
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..41
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 173
actagtcgac atgggcttca agatgaagtc acattctctg g 41

<210> 174
<211> 41
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..41
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 174
actagtcgac atgggcttca agatgaagtc acatattcag g 41

<210> 175
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 175
actagtcgac atggatggag cttatcatcc tctt 34

<210> 176
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 176
cccaagcttc cagggaccaa gggataaacg gtgg 34

<210> 177
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 177
cccaagcttc caggggccag tggataaacg ggtgg 35

<210> 178
<211> 36
<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..36
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 178
actagtcgac atgaggtact cggctcagtt cctggg 36

<210> 179
<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..36
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 179
actagtcgac atgaggtccc cggctcagtt cctggg 36

<210> 180
<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..36
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 180
actagtcgac atgaggacgt cgattcagtt cttggg 36

<210> 181
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 181
gggaattcat ggaatggacc tgggtcatcc tctt 34

<210> 182
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 182
gggaattcat ggaatgcagc tgggttatcc tctt 34

<210> 183
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..33
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 183
gggaattcat gaatggatct gggttattct ctt 33

<210> 184
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"

/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 184
cccaagcttc cagggaccag gggataaacg ggtgg 35

<210> 185
<211> 31
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..31
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 185
cccaagcttc cagggaccaa gggacgggtg g 31

<210> 186
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 186
cccaagcttc cagggaccaa tggataaaca gatgg 35

<210> 187
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 187
cccaagcttc cagggaccaa gggataaacg ggtgg 35

<210> 188
<211> 32
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..32
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 188
gggaattcat ggagacacat tcccaggtct tt 32

<210> 189
<211> 32
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..32
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 189
gggaattcat ggagtcacag tctcaggtct tt 32

<210> 190
<211> 41
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..41
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 190
actagtcgac atgggcttca agatggagtc acattttcag g 41

<210> 191
<211> 41
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..41
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 191
actagtcgac atgggcatca agatgaagtc acatattcag g 41

<210> 192
<211> 41
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..41
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 192
actagtcgac atgggcttca agatgaagtc acattctcag g 41

<210> 193
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 193
actagtcgac atgggatgga gcttatcatg ttctt 35

<210> 194
<211> 35

<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 194
actagtcgac atgggatgga gcttatcatg ctctt 35

<210> 195
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 195
gggaattcat ggaatggacc tgggttttcc tctt 34

<210> 196
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 196
gggaattcat ggaatggacc tgggtctttc tctt 34

<210> 197
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 197
gggaattcat gaaatggagc tgggttattc tctt 34

<210> 198
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 198
cccaagcttc caggggccaa tggatagacg atgg 34

<210> 199
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 199
cccaagcttc cagggaccaa gggatagacg gatgg 35

<210> 200
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34

<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 200
cccaagcttc cagggaccaa gggatagacg atgg 34

<210> 201
<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..36
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 201
actagtcgac atgatgtacc cggctcagtt tctggg 36

<210> 202
<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..36
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 202
actagtcgac atgaggactt cgattcagtt cttggg 36

<210> 203
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..39
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 203
actagtctac atgaagttgc ctgttaggct gttggtgct 39

<210> 204
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..39
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 204
actagtcgac atgaagttgt ctgttaggct gttggtgct 39

<210> 205
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..26
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 205
atgggatgga gctrtatcat sytctt 26

<210> 206
<211> 23
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..23
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 206
atgaagwtgt ggbtraactg grt 23

<210> 207
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..25
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<220>
<221> variación
<222> 15
<223> /reemplazo="n=i"

<400> 207
atggratgga sckknrtctt tmtct 25

<210> 208
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..26
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<220>
<221> variación
<222> 21
<223> /reemplazo="n=i"

<400> 208
ccagggrcca rkggatarac ngrtgg 26

<210> 209
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE

<222> 1..25
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 209
atggagacag acacactcct gctat 25

<210> 210
<211> 29
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..29
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 210
atggagwcag acacactsct gytatgggt 29

<210> 211
<211> 29
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..29
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 211
atgaagttgc ctgttaggct gttggtgct 29

<210> 212
<211> 29
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..29
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"

/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 212
atggatttwc argtgcagat twtcagctt 29

<210> 213
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..27
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 213
atggtyctya tvtccttgct gttctgg 27

<210> 214
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..27
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 214
atggtyctya tvttrctgct gctatgg 27

<210> 215
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..21
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 215

actggatggt gggaagatgg a 21

<210> 216
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..26
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 216
atgaaatgca gctggrtyat sttctt 26

<210> 217
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..26
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 217
atggrcagrc ttacwtyytc attcct 26

<210> 218
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..26
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 218
atgatggtgt taagtcttct gtacct 26

<210> 219
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..24
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 219
atgragwcac akwcycaggt cttt 24

<210> 220
<211> 32
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..32
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<220>
<221> variación
<222> 27
<223> /reemplazo="n=i"

<400> 220
atgaggrccc ctgctcagwt tyttggnwtc tt 32

<210> 221
<211> 31
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..31
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 221
atgggcwtca agatgragtc acakwyycwg g 31

8/2009

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> AC Immune S.A.
K.U. Leuven Research & Development

<120> COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA

<130> P2654 PCT/A BS

<150> EP 10 18 6810.7
<151> 07-10-2010
<150> EP 11 17 4248.2
<151> 15-07-2011

<160> 221

<170> BiSSAP 1.0

<210> 1
<211> 115
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..115
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 1
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Ile Asn Pro Asn Arg Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ser Tyr Tyr Ala Val Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 2
<211> 115
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..115
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 2
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Ile Asn Pro Asn Arg Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ser Tyr Tyr Ala Val Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 3
<211> 115
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..115
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 3
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Ile Asn Pro Asn Arg Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ser Tyr Tyr Ala Val Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 4
<211> 120
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..120
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 4
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Pro Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Gly Asp Thr Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Gly Gln Leu Arg Leu Arg Leu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 5
<211> 119
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..119
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 5
Glu Val Lys Leu Met Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Tyr Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Pro Glu Trp Leu
35 40 45
Ala Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Thr Ala

50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Gln Asn Ile
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Thr Tyr
85 90 95
Tyr Cys Val Lys Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly
100 105 110
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 6
<211> 113
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..113
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 6
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Met Ser Val Gly
1 5 10 15
Gln Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Asn Ser
20 25 30
Gly Asn Gln Lys Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Ser Pro Lys Leu Leu Val Tyr Phe Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Glu
85 90 95
His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110
Lys

<210> 7
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 7

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

<210> 8
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 8
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30
His Gly Lys Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Thr
85 90 95
Ala His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 9
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"

/organismo="Mus musculus"

<400> 9
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30
His Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Thr
85 90 95
Ala His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 10
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..107
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 10
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 11
<211> 113
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>

<221> FUENTE
<222> 1..113
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 11
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 12
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..10
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 12
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Asn
1 5 10

<210> 13
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 13
Asp Ile Asn Pro Asn Arg Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15
Gly

<210> 14
<211> 6
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..6
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 14
Tyr Tyr Ala Val Gly Tyr
1 5

<210> 15
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..10
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 15
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Gly Met His
1 5 10

<210> 16
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 16
Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Gly Asp Thr Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 17
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..11
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 17
Arg Gly Gln Leu Arg Leu Arg Leu Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 18
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..10
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 18
Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Ser
1 5 10

<210> 19
<211> 19
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..19
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 19
Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Thr Ala Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..8
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 20
Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp Val
1 5

<210> 21
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 21
Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Ser Leu
1 5 10 15
Ala

<210> 22
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..7
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 22
Phe Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9

<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 23
Gln Glu His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 24
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 24
Arg Ser Ser Gln Arg Leu Val His Ser His Gly Lys Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 25
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..7
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 25
Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 26
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 26
Ser Gln Thr Ala His Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 27
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 27
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser His Gly Lys Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 28
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 28
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser His Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 29
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..11
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 29
Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 30
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..7
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 30
Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
1 5

<210> 31
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 31
Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 32
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 32
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Ala

<210> 33
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..7
<223> /tipo_mol="proteína"

/organismo="Mus musculus"

<400> 33
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 34
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 34
Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 35
<211> 345
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..345
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 35
gaggtccagc tgcaacaatc tggacctgaa ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60

tcctgtaagg cttctggata tacgttcact gactactaca tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga gccttgagtg gattggagat attaatccta accgtggtgg aactacttac 180

aaccagaagt tcaagggcaa ggccacgttg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atggaactcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagttactac 300

gccgtgggct actggggcca aggcaccact ctcacagtct cctca 345

<210> 36
<211> 345
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..345
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 36
gaggtccagc tgcaacaatc tggacctgaa ctggtgaagc ctgggacttc agtgaagata 60

tcctgtaagg cttctggata tacgttcact gactactaca tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga gccttgagtg gattggagat attaatccta accgtggtgg aactacttac 180

aaccagaagt ttaagggcaa ggccacgttg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atggaactcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagttactac 300

gccgtgggct actggggcca aggcaccact ctcacagtct cctca 345

<210> 37
<211> 345
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..345
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 37
gaggtccagc tgcaacaatc tggacctgaa ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60

tcctgtaagg cttctggata cacgttcact gactactaca tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga gccttgagtg gattggagat attaatccta accgtggtgg aactacttac 180

aaccagaagt tcaagggcaa ggccacgttg actgtagaca cgtcctccag cacagcctac 240

atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagttactac 300

gccgtgggct actggggcca aggcaccact ctcacagtct cctca 345

<210> 38
<211> 360
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>

<221> FUENTE
<222> 1..360
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 38
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc 60

tcctgtgcac cctctggatt cactttcagt gactatggaa tgcactgggt tcgtcaggct 120

ccagagaagg gactggagtg ggttgcatac attagtagtg gcagtagtac catctactat 180

ggagacacag tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgttc 240

ctgcaaatga ccagtctgag gtctgaggac acggccatgt attactgtgc aagaagggga 300

cagctcaggc tacgcctgtt tgcttactgg ggccaaggga ctctggtcac tgtctctgca 360

<210> 39
<211> 357
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..357
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 39
gaggtgaagc tgatggaatc tggaggaggc ttggtacacc ctggggcttc tctgagactc 60

tactgtgcag cttctggatt caccttttact gattactaca tgagctgggt ccgccagcct 120

ccagggaagg cacctgagtg gttggctttg attagaaaca aagctaatgg ttacacaaca 180

gagtatactg catctgttaa gggtcggttc accatctcca gagataattc ccaaaacatc 240

ctctatcttc aaatgaacac cctgagggct gaggacagtg ccacttatta ctgtgtaaaa 300

gctctgggac gttacttcga tgtctggggc acagggacca cggtcaccgt ctcctca 357

<210> 40
<211> 339
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE

<222> 1..339
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 40
gacattgtga tgacacagtc tccatcctcc ctggctatgt cagtaggaca gaaggtcact 60

atgagctgca agtccagtca gagtgttttt aatagtggca atcaaaagaa ctctttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg acagtctcct aaacttctgg tatactttgc atccactagg 180

gaatctgggg tccctgatcg cttcataggc agtggatctg ggacagattt cagtcttacc 240

atcagcagtg tgcaggctga ggacctggca gattacttct gtcaggaaca ttataccact 300

cctcccacgt tcggtactgg gaccaagctg gagctgaaa 339

<210> 41
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 41
gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gaggcttgta cacagtcatg gaaaaaccta tttacattgg 120

tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccggttt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgtt ctcaaactgc acattttccg 300

tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 42
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336

<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 42
gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtcatg gaaaaaccta tttacattgg 120

tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccggttt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgtt ctcaaactgc acattttccg 300

tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 43
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 43
gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagccttcta cacagtcatg gaaacaccta tttacattgg 120

tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccggttt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaactgc acattttccg 300

tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 44
<211> 321
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..321
<223> /tipo_mol="ADN"

/organismo="Mus musculus"

<400> 44
gacattgtga tgacccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

atcacctgca aggccagtca ggatgtgagt actgctgtag cctggtatca acagaaacca 120

ggacaatctc ctaaactact gatttactcg gcatcctacc ggtacactgg agtccctgat 180

cgcttcactg gcagtggatc tgggacggat ttcactttca ccatcagcag tgtgcaggct 240

gaagacctgg cagtttatta ctgtcagcaa cattatacta ctccgctcac gttcggtgct 300

gggaccaagc tggagctgaa a 321

<210> 45
<211> 339
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..339
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 45
gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctagctgtgt cagttggaga gaaggttact 60

atgagctgca agtccagtca gagcctttta tatagtagca atcaaaagaa ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgctga tttactgggc atccactagg 180

gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagtg tgaaggctga agacctggca gtttattact gtcagcaata ttatagctat 300

ccattcacgt tcggctcggg gacaaagttg gaaataaaa 339

<210> 46
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"

/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 46
gggaattcat graatgsasc tgggtywtyc tctt 34

<210> 47
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<220>
<221> variación
<222> 30..30
<223> /reemplazo="n=i"

<400> 47
cccaagcttc cagggrccar kggataracn grtgg 35

<210> 48
<211> 32
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..32
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 48
gggaattcat gragwcacak wcycaggtct tt 32

<210> 49
<211> 41
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..41

<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 49
actagtcgac atgggcwtca agatgragtc acakwyycwg g 41

<210> 50
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..39
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 50
actagtcgac atgaagttgc ctgttaggct gttggtgct 39

<210> 51
<211> 30
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..30
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 51
cccaagctta ctggatggtg ggaagatgga 30

<210> 52
<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..36
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 52
actagtcgac atgggatgga gctrtatcat sytctt 36

<210> 53
<211> 33
<212> ADN
<213> artificial seuqence

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..33
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="artificial seuqence"

<400> 53
gggaattcat grasttskgg ytmarctkgr ttt 33

<210> 54
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..39
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 54
actagtcgac atggactcca ggctcaattt agttttcct 39

<210> 55
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..33
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 55
actagtcgac atgaagwtgt ggbtraactg grt 33

<210> 56
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..39
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<220>
<221> característica_misc
<222> 27..27
<223> /nota="n=i"

<400> 56
actagtcgac atggagwcag acacacnsct gytatgggt 39

<210> 57
<211> 37
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..37
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 57
actagtcgac atggtyctya tvttrctgct gctatgg 37

<210> 58
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..30
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of artifiial sequence: ACI-37"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<220>
<221> VARIANT
<222> 18..18
<223> serina fosforilada

<220>
<221> VARIANT
<222> 26..26
<223> serina fosforilada

<400> 58
Arg Glu Asn Ala Lys Ala Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr
1 5 10 15
Lys Ser Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu
20 25 30

<210> 59
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of Secuencia Artificial: ACI-33"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<220>
<221> VARIANT
<222> 14..14
<223> serina fosforilada

<400> 59
Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly Thr Tyr Gly Leu
1 5 10 15

<210> 60
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of Secuencia Artificial: ACI-39"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<220>
<221> VARIANT

<222> 7..7
<223> treonina fosforilada

<220>
<221> VARIANT
<222> 9..9
<223> serina fosforilada

<400> 60
Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg
1 5 10 15

<210> 61
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of Secuencia Artificial: ACI-39"
/organismo="Secuencia Artificial"

<220>
<221> VARIANT
<222> 7..7
<223> serina fosforilada

<220>
<221> VARIANT
<222> 10..10
<223> treonina fosforilada

<400> 61
Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Arg Ser Arg
1 5 10 15

<210> 62
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of Secuencia Artificial: ACI-35"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<220>

<221> VARIANT
<222> 4..4
<223> serina fosforilada

<220>
<221> VARIANT
<222> 12..12
<223> serina fosforilada

<400> 62
Val Tyr Lys Ser Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu
1 5 10 15

<210> 63
<211> 18
<212> PRT
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..18
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of Secuencia Artificial: ACI-36"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<220>
<221> VARIANT
<222> 4..4
<223> serina fosforilada

<220>
<221> VARIANT
<222> 9..9
<223> serina fosforilada

<400> 63
Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser
1 5 10 15
Ile Asp

<210> 64
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of Secuencia Artificial: ACI-34"

/organismo="Secuencias Artificiales"

<220>
<221> VARIANT
<222> 3..3
<223> serina fosforilada

<220>
<221> VARIANT
<222> 6..6
<223> treonina fosforilada

<220>
<221> VARIANT
<222> 13..13
<223> treonina fosforilada

<220>
<221> VARIANT
<222> 15..15
<223> serina fosforilada

<400> 64

Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu
1 5 10 15
Pro

<210> 65
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..12
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of Secuencia Artificial: ACI-42"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<220>
<221> VARIANT
<222> 3..3
<223> serina fosforilada

<400> 65
His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser Ile Asp
1 5 10

<210> 66

<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..10
<223> /tipo_mol="proteína"
/nota="Description of Secuencia Artificial: ACI-43"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<220>
<221> VARIANT
<222> 6..6
<223> serina fosforilada

<400> 66
Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu
1 5 10

<210> 67
<211> 441
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..441
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Homo sapiens"

<400> 67
Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly
1 5 10 15
Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His
20 25 30
Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu
35 40 45
Gln Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly Ser Glu Thr Ser
50 55 60
Asp Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Glu Asp Val Thr Ala Pro Leu Val
65 70 75 80
Asp Glu Gly Ala Pro Gly Lys Gln Ala Ala Ala Gln Pro His Thr Glu
85 90 95
Ile Pro Glu Gly Thr Thr Ala Glu Glu Ala Gly Ile Gly Asp Thr Pro
100 105 110
Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val Thr Gln Ala Arg Met Val
115 120 125
Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp Asp Lys Lys Ala Lys Gly
130 135 140
Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro Arg Gly Ala Ala Pro Pro

145 150 155 160
Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg Ile Pro Ala Lys Thr Pro
165 170 175
Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly Glu Pro Pro Lys Ser Gly
180 185 190
Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser
195 200 205
Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg Glu Pro Lys
210 215 220
Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys Ser Pro Ser Ser Ala Lys
225 230 235 240
Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu Lys Asn Val
245 250 255
Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln Pro Gly Gly
260 265 270
Gly Lys Val Gln Ile Ile Asn Lys Lys Leu Asp Leu Ser Asn Val Gln
275 280 285
Ser Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys His Val Pro Gly Gly Gly
290 295 300
Ser Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser Lys Val Thr Ser
305 310 315 320
Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro Gly Gly Gly Gln
325 330 335
Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp Arg Val Gln Ser
340 345 350
Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro Gly Gly Gly Asn
355 360 365
Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu Asn Ala Lys Ala
370 375 380
Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr Lys Ser Pro Val Val Ser
385 390 395 400
Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser
405 410 415
Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu Ala Thr Leu Ala Asp Glu Val
420 425 430
Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu
435 440

<210> 68
<211> 117
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..117
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 68
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Leu Lys Pro Gly Ala

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

<210> 69
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 69
Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Leu Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95
Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 70
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..10

<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 70
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met His
1 5 10

<210> 71
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 71
Arg Ile Asp Pro Asn Ser Asp Arg Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Arg

<210> 72
<211> 8
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..8
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 72
Asp Asp Tyr Ala Trp Phe Ala Tyr
1 5

<210> 73
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 73

Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
1 5 10 15

<210> 74
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..7
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 74
Lys Leu Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 75
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 75
Phe Gln Gly Ser His Val Pro Pro Thr
1 5

<210> 76
<211> 119
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..119
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 76
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Ser Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Ala Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Asn Gln Val
65 70 75 80
Phe Leu Lys Ile Thr Cys Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Leu Leu Arg Pro Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 77
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 77
Asn Ile Leu Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln
85 90 95
Tyr Leu Ser Ser Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 78
<211> 12
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..12
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 78
Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Ser

1 5 10

<210> 79
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 79
His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Ala Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 80
Leu Leu Arg Pro Tyr Ala Leu Asp Tyr
1 5

<210> 81
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 81
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Ala

<210> 82
<211> 7

<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..7
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 82
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 83
<211> 8
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..8
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 83
Leu Gln Tyr Leu Ser Ser Leu Thr
1 5

<210> 84
<211> 351
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..351
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 84
caggtccaac tgcagcagcc tggggctgag cttctgaagc ctggggcttc agtgaaactg 60

tcctgcaagg cttctggcta caccttcacc agctactgga tgcactgggt gaagcagagg 120

cctggacgag gccttgagtg gattggaagg attgatccta atagtgatcg tactaagtac 180

aatgagaagt tcaagcgcaa ggccacactg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attattgtgc aagggatgat 300

tacgcctggt ttgcttactg gggccaaggg actctggtca ctgtctctgc a 351

<210> 85
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 85
gatgttttga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagcattgta catagtaatg gaaacaccta tttagaatgg 120

tacctgcaga aaccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaactttc caaccgattt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tattactgct ttcaaggttc acatgttcct 300

ccgacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaa 336

<210> 86
<211> 357
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..357
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 86
caggttactc tgaaagagtc tggccctggg atattgcagt cctcccagac cctcagtctg 60

acttgttctt tctctgggtt ttcactgagc acttctggta tgggtgtgag ctggattcgt 120

cagccttcag gaaagggtct ggagtggctg gcacacattt actgggatga tgacaagcgc 180

tataacgcat ccctgaagag ccggctcaca atctccaagg atacctccag aaaccaggta 240

ttcctcaaga tcacctgtgt ggacactgca gatactgcca catactactg tgctcggtta 300

ctgcgtcctt atgctttgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcctca 357

<210> 87
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 87
aacattttga tgacacagtc gccatcatct ctggctgtgt ctgcaggaga aaaggtcact 60

atgagctgta agtccagtca aagtgtttta tacagttcaa atcagaagaa ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgctga tctactgggc atccactagg 180

gaatctggtg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt tactcttacc 240

atcagcagtg tacaagctga agacctggca gtttattact gtcttcaata cctctcctcg 300

ctcacgttcg gtgctgggac caagctggag ctgaaa 336

<210> 88
<211> 115
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..115
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 88

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

85 90 95
Val Arg Glu Gly Arg Phe Ala Tyr Trp Gly His Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ala
115

<210> 89
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..10
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 89
Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Asn
1 5 10

<210> 90
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 90
Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 91
<211> 6
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..6
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 91
Glu Gly Arg Phe Ala Tyr

1 5

<210> 92
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> SITE
<222> 3..3
<223> Xaa is Met or Val

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 92
Asp Ile Xaa Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Phe Thr Leu Arg Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
85 90 95
Leu Lys Ser Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 93
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 93
Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 94
<211> 7

<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..7
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 94
Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 95
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 95
Met Gln His Leu Lys Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 96
<211> 115
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..115
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 96
Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Ala Arg Ile Tyr Pro Gly Arg Gly Asn Ile Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Glu Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95
Ala Arg Phe Trp Asp Val Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ala
115

<210> 97
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 97
Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95
Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 98
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..10
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 98
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Ile Asn
1 5 10

<210> 99
<211> 17
<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 99
Arg Ile Tyr Pro Gly Arg Gly Asn Ile Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 100
<211> 6
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..6
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 100
Phe Trp Asp Val Thr Tyr
1 5

<210> 101
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..16
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 101
Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
1 5 10 15

<210> 102
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE

<222> 1..7
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 102
Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 103
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 103
Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 104
<211> 115
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..115
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 104
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr His Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Glu Gly Arg Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ala
115

<210> 105
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..107
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 105
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 106
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..11
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 106
Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala
1 5 10

<210> 107
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..7

<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 107
Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
1 5

<210> 108
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..9
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 108
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 109
<211> 345
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..345
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 109
gaggtccagc tgcaacaatc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60

tcctgtaagg cttctggata cacgttcact gactactaca tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga gccttgagtg gattggagat attaatccta acaatggtgg tactagctac 180

aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atggagctcc gcagtctgac atctgaggac tctgcagtct attattgtgt aagagagggg 300

cggtttgctt actggggtca tgggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 110
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 110
gatattrtga tgactcaggc tgcaccctct gtacctgtca ctcctggaga gtcagtatcc 60

atctcctgca ggtctagtaa gagtctcctg catagtaatg gcaacactta cttgtattgg 120

ttcctgcaga ggccaggcca gtctcctcag ctcctgatat atcggatgtc caaccttgcc 180

tcaggagtcc cagacaggtt cagtggcagt gggtcaggaa ctgctttcac actgagaatc 240

agtagagtgg aggctgagga tgtgggtgtt tattactgta tgcaacatct aaaatctccg 300

tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 111
<211> 345
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..345
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 111
caggtccagc tgaagcagtc tggggctgag ctggtgaggc ctggggcttc agtgaaactg 60

tcctgcaagg cttctggcta cactttcact gactactata taaactgggt gaagcagagg 120

cctggacagg gacttgagtg gattgcaagg atttatcctg gaagaggtaa tatttactac 180

aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actgcagaaa aatcctccag cactgcctac 240

atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagattctgg 300

gacgtgactt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 112
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 112
gatgttttga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagcattgta catagtaatg gaaacaccta tttagaatgg 120

ttcctgcaga aaccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccgattt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tattactgct ttcaaggttc acatgttccg 300

tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 113
<211> 345
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..345
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 113
gaggtccagc tgcaacaatc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60

tcctgtaagg cttctggatt cacgttcact gactactaca tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga gccttgagtg gattggagat attaatccta acaatggtgg tactagctac 180

caccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgt aagagaggga 300

agatttgctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 114
<211> 321
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>

<221> FUENTE
<222> 1..321
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 114
gacattgtga tgacccagtc tcaaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

gtcacctgca aggccagtca gaatgtgggt actaatgtag cctggtatca acagaaacca 120

gggcaatctc ctaaagcact gatttactcg gcatcctacc ggtacagtgg agtccctgat 180

cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcaa tgtgcagtct 240

gaagacttgg cagagtattt ctgtcagcaa tataacagct atccgtacac gttcggaggg 300

gggaccaagc tggaaataaa a 321

<210> 115
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..17
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 115
Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr His Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 116
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 116
Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser

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

<210> 117
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 117
gatattgtga tgactcaggc tgcaccctct gtacctgtca ctcctggaga gtcagtatcc 60

atctcctgca ggtctagtaa gagtctcctg catagtaatg gcaacactta cttgtattgg 120

ttcctgcaga ggccaggcca gtctcctcag ctcctgatac atcggatgtc caaccttgcc 180

tcaggagtcc cagacaggtt cagtggcagt gggtcaggaa ctgctttcac actgagaatc 240

agtagagtgg aggctgagga tgtgggtgtt tattactgta tgcaacatct aaaatctccg 300

tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 118
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..112
<223> /tipo_mol="proteína"
/organismo="Mus musculus"

<400> 118
Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

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

<210> 119
<211> 336
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..336
<223> /tipo_mol="ADN"
/organismo="Mus musculus"

<400> 119
gatattgtga tgactcaggc tgcaccctct gtacctgtca ctcctggaga gtcagtatcc 60

atctcctgca ggtctagtaa gagtctcctg catagtaatg gcaacactta cttgtattgg 120

ttcctgcaga ggccaggcca gtctcctcag ctcctgatat atcggatgtc caaccttgcc 180

tcaggagtcc cagacaggtt cagtggcagt gggtcaggaa ctgctttcac actgagaatc 240

agtagagtgg aggctgagga tgtgggtgtt tattactgta tgcaacatct aaaatctccg 300

tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 120
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<400> 120

gggaattcat ggaatgcagc tgggtttttc tctt 34

<210> 121
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<400> 121
gggaattcat ggaatggagc tgggtctttc tctt 34

<210> 122
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencias Artificiales

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencias Artificiales"

<400> 122
gggaattcat ggaatgcagc tgggtcattc tctt 34

<210> 123
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 123
gggaattcat ggaatggagc tgggtttttc tctt 34

<210> 124
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 124
gggaattcat ggaatggagc tgggttattc tctt 34

<210> 125
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 125
gggaattcat ggaatggagc tgggttattc tctt 34

<210> 126
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 126
gggaattcat ggaatgcagc tgggtcttcc tctt 34

<210> 127
<211> 35
<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 127
gggaattcat ggaatggagc tgggttttcc tcttc 35

<210> 128
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 128
cccaagcttc cagggaccaa tggataacgg gtgg 34

<210> 129
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 129
cccaagcttc cagggaccaa tggataaacg atgg 34

<210> 130
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 130
cccaagcttc cagggaccaa tggataaacg gtgg 34

<210> 131
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 131
cccaagcttc cagggaccaa tggataaacg gatgg 35

<210> 132
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 132
cccaagcttc cagggaccag tggatagacg ggtgg 35

<210> 133
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"

/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 133
cccaagcttc cagggaccaa gggatagatg atgg 34

<210> 134
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 134
cccaagcttc caggggccaa tggataaacg ggtgg 35

<210> 135
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 135
cccaagcttc caggggccaa tggataaacg atgg 34

<210> 136
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 136
gggaattcat ggaatggagc tgggtcattc tctt 34

<210> 137
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 137
gggaattcat ggaatgcacc tgggttttcc tctt 34

<210> 138
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 138
gggaattcat ggaatggagc tgggtcttcc tctt 34

<210> 139
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 139
gggaattcat ggaatggagc tgggtcatcc tctt 34

<210> 140
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 140
actagtcgac atgggatgag cttatcatcc tctt 34

<210> 141
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..33
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 141
cccaagcttc caggggccaa tggataacgg tgg 33

<210> 142
<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..36
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 142
cccaagcttc cagggaccag tgggataaac gggtgg 36

<210> 143
<211> 35

<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 143
cccaagcttc cagggaccaa gggatagacg ggtgg 35

<210> 144
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 144
cccaagcttc cagggaccaa gggataaacg gatgg 35

<210> 145
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 145
cccaagcttc cagggaccag gggataaacg gatgg 35

<210> 146
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 146
cccaagcttc caggggccag ggataaacgg gtgg 34

<210> 147
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 147
cccaagcttc caggggccaa tggataaacc ggtgg 35

<210> 148
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 148
cccaagcttc cagggaccag tggataaacg gtgg 34

<210> 149
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35

<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 149
actagtcgac atggtgtcca cagctcagtt ccttg 35

<210> 150
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 150
gggaattcat gaaatggagc tgggtcttcc tctt 34

<210> 151
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 151
gggaattcat ggaatgcagc tgggttattc tctt 34

<210> 152
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 152
gggaatttat ggaatggagc tgggtcttcc tctt 34

<210> 153
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 153
gggaattcat ggaatgcagc tgggtcatcc tctt 34

<210> 154
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 154
gggaattcat ggaatgcagc tgggttttcc tctt 34

<210> 155
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 155
gggaattcat ggaatgcagc tgggtctttc tctt 34

<210> 156
<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..36
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 156
actagtcgac atgggatgga gctatatcat cctctt 36

<210> 157
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 157
actagtcgac atgggatgga gcttatcatc ttctt 35

<210> 158
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..33
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 158
actagtcgac atgtagatgt ggttaaactg ggt 33

<210> 159

<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 159
cccaagcttc caggggccag gggataaacg gatgg 35

<210> 160
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 160
cccaagcttc caggggccaa gggatagacg gatgg 35

<210> 161
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 161
cccaagcttc cagggaccag gggatagacg ggtgg 35

<210> 162
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 162
cccaagcttc cagggaccag gggatagacg gatgg 35

<210> 163
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 163
cccaagcttc caggggccag tggataaacg gatgg 35

<210> 164
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..33
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 164
cccaagcttc caggggccaa tggataacga tgg 33

<210> 165
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE

<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 165
cccaagcttc caggggccag tggataaacg atgg 34

<210> 166
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 166
cccaagcttc cagggaccag tggataaacg atgg 34

<210> 167
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..33
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 167
cccaagcttc cagggaccaa tggataacga tgg 33

<210> 168
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"

/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 168
cccaagcttc cagggaccat ggataaacgg gtgg 34

<210> 169
<211> 41
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..41
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 169
actagtcgac atgggcatca agatgaagtc acatactctg g 41

<210> 170
<211> 40
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..40
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 170
actagtcgac atgggcatca agatgagtca catactctgg 40

<210> 171
<211> 38
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..38
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 171

actagtcgac tgggcatcag atgagtcaca tactctgg 38

<210> 172
<211> 41
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..41
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 172
actagtcgac atgggcatca agatgaagtc acagacccag g 41

<210> 173
<211> 41
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..41
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 173
actagtcgac atgggcttca agatgaagtc acattctctg g 41

<210> 174
<211> 41
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..41
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 174
actagtcgac atgggcttca agatgaagtc acatattcag g 41

<210> 175
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 175
actagtcgac atggatggag cttatcatcc tctt 34

<210> 176
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 176
cccaagcttc cagggaccaa gggataaacg gtgg 34

<210> 177
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 177
cccaagcttc caggggccag tggataaacg ggtgg 35

<210> 178
<211> 36
<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..36
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 178
actagtcgac atgaggtact cggctcagtt cctggg 36

<210> 179
<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..36
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 179
actagtcgac atgaggtccc cggctcagtt cctggg 36

<210> 180
<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..36
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 180
actagtcgac atgaggacgt cgattcagtt cttggg 36

<210> 181
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 181
gggaattcat ggaatggacc tgggtcatcc tctt 34

<210> 182
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 182
gggaattcat ggaatgcagc tgggttatcc tctt 34

<210> 183
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..33
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 183
gggaattcat gaatggatct gggttattct ctt 33

<210> 184
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"

/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 184
cccaagcttc cagggaccag gggataaacg ggtgg 35

<210> 185
<211> 31
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..31
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 185
cccaagcttc cagggaccaa gggacgggtg g 31

<210> 186
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 186
cccaagcttc cagggaccaa tggataaaca gatgg 35

<210> 187
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 187
cccaagcttc cagggaccaa gggataaacg ggtgg 35

<210> 188
<211> 32
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..32
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 188
gggaattcat ggagacacat tcccaggtct tt 32

<210> 189
<211> 32
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..32
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 189
gggaattcat ggagtcacag tctcaggtct tt 32

<210> 190
<211> 41
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..41
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 190
actagtcgac atgggcttca agatggagtc acattttcag g 41

<210> 191
<211> 41
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..41
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 191
actagtcgac atgggcatca agatgaagtc acatattcag g 41

<210> 192
<211> 41
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..41
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 192
actagtcgac atgggcttca agatgaagtc acattctcag g 41

<210> 193
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 193
actagtcgac atgggatgga gcttatcatg ttctt 35

<210> 194
<211> 35

<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 194
actagtcgac atgggatgga gcttatcatg ctctt 35

<210> 195
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 195
gggaattcat ggaatggacc tgggttttcc tctt 34

<210> 196
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 196
gggaattcat ggaatggacc tgggtctttc tctt 34

<210> 197
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 197
gggaattcat gaaatggagc tgggttattc tctt 34

<210> 198
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 198
cccaagcttc caggggccaa tggatagacg atgg 34

<210> 199
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..35
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 199
cccaagcttc cagggaccaa gggatagacg gatgg 35

<210> 200
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..34

<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 200
cccaagcttc cagggaccaa gggatagacg atgg 34

<210> 201
<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..36
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 201
actagtcgac atgatgtacc cggctcagtt tctggg 36

<210> 202
<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..36
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 202
actagtcgac atgaggactt cgattcagtt cttggg 36

<210> 203
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..39
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 203
actagtctac atgaagttgc ctgttaggct gttggtgct 39

<210> 204
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..39
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 204
actagtcgac atgaagttgt ctgttaggct gttggtgct 39

<210> 205
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..26
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 205
atgggatgga gctrtatcat sytctt 26

<210> 206
<211> 23
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..23
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 206
atgaagwtgt ggbtraactg grt 23

<210> 207
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..25
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<220>
<221> variación
<222> 15
<223> /reemplazo="n=i"

<400> 207
atggratgga sckknrtctt tmtct 25

<210> 208
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..26
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<220>
<221> variación
<222> 21
<223> /reemplazo="n=i"

<400> 208
ccagggrcca rkggatarac ngrtgg 26

<210> 209
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE

<222> 1..25
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 209
atggagacag acacactcct gctat 25

<210> 210
<211> 29
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..29
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 210
atggagwcag acacactsct gytatgggt 29

<210> 211
<211> 29
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..29
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 211
atgaagttgc ctgttaggct gttggtgct 29

<210> 212
<211> 29
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..29
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"

/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 212
atggatttwc argtgcagat twtcagctt 29

<210> 213
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..27
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 213
atggtyctya tvtccttgct gttctgg 27

<210> 214
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..27
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 214
atggtyctya tvttrctgct gctatgg 27

<210> 215
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..21
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 215

actggatggt gggaagatgg a 21

<210> 216
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..26
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 216
atgaaatgca gctggrtyat sttctt 26

<210> 217
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..26
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 217
atggrcagrc ttacwtyytc attcct 26

<210> 218
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..26
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 218
atgatggtgt taagtcttct gtacct 26

<210> 219
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..24
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 219
atgragwcac akwcycaggt cttt 24

<210> 220
<211> 32
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..32
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<220>
<221> variación
<222> 27
<223> /reemplazo="n=i"

<400> 220
atgaggrccc ctgctcagwt tyttggnwtc tt 32

<210> 221
<211> 31
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> FUENTE
<222> 1..31
<223> /tipo_mol="ADN"
/nota="Descripción de secuencia artificial: cebador"
/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 221
atgggcwtca agatgragtc acakwyycwg g 31