



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO ANTICUERPOS HUMANIZADOS
QUE RECONOCEN LA ALFA - SINUCLEINA

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL _____

71. SOLICITANTE NEOTOPE BIOSCIENCES

DOMICILIO DUBLIN, IRLANDA.

74. APODERADO ALVARO CORREA.

22. BOGOTÁ, D.C., 26 DE MAYO DE 2014.



No. 14-113186- -00000-0000

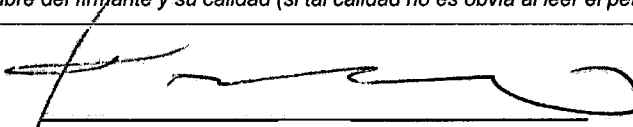
Fecha: 2014-05-26 16:43:46
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 78

Resumen de radicación

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL -PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/US2012/062290	Fecha 26/10/2012
Publicación Internacional No.		WO/2013/063516	Fecha 02/05/2013
3	TÍTULO DE LA INVENCION (200 caracteres o espacios máximos)		
ANTICUERPOS HUMANIZADOS QUE RECONOCEN LA ALFA-SINUCLEINA			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP)		
A61K 39/00 (2006.01), A61K 39/395 (2006.01), C07K 16/00 (2006.01)			
5	SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
1 NEOTOPE BIOSCIENCES LIMITED			
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN		25-28 North Wall Quay Dublin 1	No. TELÉFONO 6341500
CIUDAD		Dublin	CORREO ELECTRÓNICO Alvaro.correa@bakermckenzie.com
DEPARTAMENTO/ESTADO			NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN Irlanda
PAÍS DE RESIDENCIA		Irlanda	
7	INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
1. SALDANHA		Jose	Británica
2. NIJJAR		Tarlochan S.	Estados Unidos de América
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
PAÍS RESIDENCIA		DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD
1. Estados Unidos de América		Enfield	Middlesex
2. Estados Unidos de América		California	Orinda
			21 Fillebrook Avenue Enfield Middlesex EN1 3BD
			712 Ironbark Court Orinda, California 94563
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			
9	☐ REPRESENTANTE LEGAL ☒ APODERADO		
APELLIDOS		NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
Correa		Alvaro	C.C. 79.143.366 T.P. 20.281
DIRECCIÓN		Av. 82 No. 10-62 Piso 5	
CIUDAD		Bogotá	
PAÍS		Colombia	
		No. TELÉFONO	6341500
		CORREO ELECTRÓNICO	Alvaro.correa@bakermckenzie.com
		No. RADICACIÓN DE PROTOCOLO DE PODER GENERAL	

10	DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO			
(33) PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO	(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
1. Estados Unidos de América		US	61/553,131	28/10/2011
2. Estados Unidos de América		US	61/711,208	08/10/2012
11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS			
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.</i>				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.				
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES			
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.</i>				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.				
13	REDUCCIÓN DE TASAS			
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i>				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.				
Micro, pequeñas y medianas empresas ☐				
Universidades públicas o privadas ☐				
Entidades sin ánimo de lucro ☐				
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos				
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☒ SI ☐ NO			
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.				
15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N° 14-0050031	Fecha	12/05/2014
16	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL			
Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)				
				
17	ANEXOS			
Documentación Técnica		Documentación Jurídica		
Solicitud Internacional en castellano				
1. ☒ Descripción N° de folios:		9. ☐ Poderes, si fuera el caso.		
2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 64		10. ☒ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.		
3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios: 8		11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.		
4. ☒ Resumen.		12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.		
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.		13. Reducción de tasas		
6. ☒ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.		Micro, pequeñas o medinas empresas		
7. ☐ Arte final 12 x 12.		☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.		
8. ☒ Anexo formato digital.		☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.		
		Universidades públicas o privadas		
		☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación		
		Entidades sin ánimo de lucro		
		☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.		
		☐ Hoja de información complementaria.		
		☐ Otros, especificar		
		14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.		
		15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.		
		16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.		
		17. ☐ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.		

RECIBO DE PAGO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -

0014 / 046

3



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 0050031

Bogotá D.C., Mayo 12 de 2014 - 16:37:13

RECIBIDO DE : BAKER

NI 900.532.339

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	587975964	08/05/2014	122.746.000.00

*** Conceptos Pagados ***

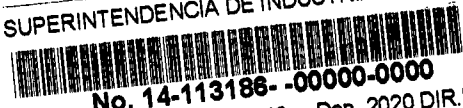
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1 50005-01-01	SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	515.000.00	515.000.00
				\$515.000.00

SON: **QUINIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-113186-00000-0000

Fecha: 2014-05-26 16:43:46 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 7

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Mayo 12 de 2014 - 16:37:42

EXTRACTOS

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl:	
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) NEOTOPE BIOSCIENCES LIMITED	
(30) Prioridad	(31) No. 61/553,131 61/711,208	32) Fecha 28/10/2011 08/10/2012	(33) País US US
		(72) Inventor(es) SALDANHA, Jose; NIJJAR, Tarlochan S.	
		(74) Apoderado: ALVARO CORREA ORDOÑEZ	
(85)	Fecha limite inicio fase nacional: 28/10/2014		(87) Publicación internacional
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 02/05/2013
	Fecha de presentación de la solicitud: 26/10/2012		N° publicación: WO/2013/063516
	No. de solicitud PCT/US2012/062290		
(54) Titulo: ANTICUERPOS HUMANIZADOS QUE RECONOCEN LA ALFA-SINUCLEINA			

Resumen:
La presente solicitud describe los anticuerpos 9E4 humanizados. Los anticuerpos se unen a la alfa sinucleína humana y pueden utilizarse para la inmunoterapia de la enfermedad de cuerpos de Lewy.



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

PATENTE DE INVENCION ____ PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ____

(21) N° de solicitud:

(22) Fecha de solicitud:

(51) Clasificación Internacional :

(71) Solicitante(s)

NEOTOPE BIOSCIENCES LIMITED

(72) Inventor(es)

SALDANHA, Jose; NIJJAR, Tarlochan S.

(74) Apoderado: **ALVARO CORREA ORDOÑEZ**

(30) Prioridad

(31) *No. Prioridad*

(32)

Fecha

(33)

País

61/553,131

28/10/2011

US

61/711,208

08/10/2012

US

(85) Fecha inicio fase nacional: **28/10/2014**

(87) Publicación internacional

(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT

Fecha: **02/05/2013**

Fecha de presentación de la solicitud: **26/10/2012**

N° publicación: **WO/2013/063516**

No. de solicitud **PCT/US2012/062290**

(54) Título:

ANTICUERPOS HUMANIZADOS QUE RECONOCEN LA ALFA-SINUCLEINA



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO TEMATICO

PATENTE DE INVENCION _____ PCT X MODELO DE UTILIDAD _____ DISEÑO INDUSTRIAL _____

(21) N° de solicitud: _____ (22) Fecha de solicitud: _____

(51) Clasificación Internacional: _____

(71) Solicitante(s)

NEOTOPE BIOSCIENCES LIMITED

(72) Inventor(es)

SALDANHA, Jose; NIJJAR, Tarlochan S.

(74) Apoderado: **ALVARO CORREA ORDOÑEZ**

(30) Prioridad

(31) **No. Prioridad**

32)

Fecha

(33) **País**

61/553,131

28/10/2011

US

61/711,208

08/10/2012

US

(85) Fecha limite inicio fase nacional: **28/10/2014**

(86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT

Fecha de presentación de la solicitud: **26/10/2012**

No. de solicitud **PCT/US2012/062290**

(87) Publicación internacional:

Fecha: **02/05/2013**

No. Publicación: **WO/2013/063516**

(54) Título:

ANTICUERPOS HUMANIZADOS QUE RECONOCEN LA ALFA-SINUCLEINA

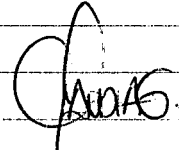
(57) Resumen:

La presente solicitud describe los anticuerpos 9E4 humanizados. Los anticuerpos se unen a la alfa sinucleína humana y pueden utilizarse para la inmunoterapia de la enfermedad de cuerpos de Lewy.

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA RELACIÓN DE ANEXOS	
Dependencia: 2020		Fecha: <u>14</u> / <u>5</u> / <u>26</u> AAAA MM DD	
		Recorrido: 4	
Tipo de Radicación: Entrada: ☐ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐			
Radicador:		Planilla:	

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	14-113186	0	7
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
7	CD X
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones: Folio 7, Anexan cd que contiene 18 Archivos formato PDF / y tiff los cuales fueron procesados de acuerdo a lo estipulado. 

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-113186- -00000-0000

Fecha: 2014-05-26 16:43:46 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 7



ACIONES

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☒	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☒	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐



(51) International Patent Classification:

A61K 39/00 (2006.01) C07K 16/00 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2012/062290

(22) International Filing Date:

26 October 2012 (26.10.2012)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

61/553,131 28 October 2011 (28.10.2011) US
61/711,208 8 October 2012 (08.10.2012) US

(71) Applicant: **NEOTOPE BIOSCIENCES LIMITED**
[IE/IE]; Treasury Building, Lower Grand Canal Street,
Dublin, 2 (IE).

(72) Inventors; and

(71) Applicants : **SALDANHA, Jose** [GB/US]; 21 Fillebrook
Avenue, Enfield Middlesex EN1 3BD (GB). **NIJJAR,**
Tarlochan S. [US/US]; 712 Ironbark Court, Orinda, Cali-
fornia 94563 (US).

(74) Agents: **LIEBESCHUETZ, Joe** et al.; Alston & Bird
LLP, Bank of America Plaza, 101 South Tryon Street,
Suite 4000, Charlotte, North Carolina 28280-4000 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU,
RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ,
TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA,
ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ,
UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,
TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

- with international search report (Art. 21(3))
- with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))

(54) Title: HUMANIZED ANTIBODIES THAT RECOGNIZE ALPHA-SYNUCLEIN

(57) Abstract: The present application discloses humanized 9E4 antibodies. The antibodies bind to human alpha synuclein and can be used for immunotherapy of Lewy body disease.



WO 2013/063516 A1

Humanized Antibodies that Recognize Alpha-Synuclein

CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATION

[0001] This application claims priority to U.S. Provisional Patent Application No. 61/553,131, filed October 28, 2011, and U.S. Provisional Patent Application No. 61/711,208, filed October 8, 2012, each of which is incorporated by reference in the entirety for all purposes.

REFERENCE TO A SEQUENCE LISTING

[0002] The Sequence Listing written in file 424859SEQLIST.txt is 34 kilobytes and was created on October 24, 2012. The information contained in this file is hereby incorporated by reference.

BACKGROUND

[0003] Synucleinopathies also known as Lewy body diseases (LBDs), are characterized by degeneration of the dopaminergic system, motor alterations, cognitive impairment, and formation of Lewy bodies (LBs) and/or Lewy neurites. (McKeith et al., *Neurology* (1996) 47:1113-24). Synucleinopathies include Parkinson's disease (including idiopathic Parkinson's disease), Diffuse Lewy Body Disease (DLBD) also known as Dementia with Lewy Bodies (DLB), Lewy body variant of Alzheimer's disease (LBV), Combined Alzheimer's and Parkinson disease, pure autonomic failure and multiple system atrophy (MSA; *e.g.*, Olivopontocerebellar Atrophy, Striatonigral Degeneration and Shy-Drager Syndrome). Several nonmotor signs and symptoms are thought to be harbingers for synucleinopathies in the prodromal phase of the diseases (i.e, the presymptomatic, subclinical, preclinical, or premotor period). Such early signs include, for example, REM sleep behavior disorder (RBD), loss of smell and constipation (Mahowald et al., *Neurology* (2010) 75:488-489). Lewy body diseases continue to be a common cause for movement disorders and cognitive deterioration in the aging population (Galasko et al., *Arch. Neurol.* (1994) 51:888-95).

[0004] Alpha-synuclein is part of a large family of proteins including beta- and gamma- synuclein and synoretin. Alpha-synuclein is expressed in the normal state associated with synapses and is believed to play a role in neural plasticity, learning

and memory. Several studies have implicated alpha-synuclein with a central role in PD pathogenesis. The protein can aggregate to form insoluble fibrils in pathological conditions. For example, synuclein accumulates in LBs (Spillantini et al., *Nature* (1997) 388:839-40; Takeda et al., *J. Pathol.* (1998) 152:367-72; Wakabayashi et al., *Neurosci. Lett.* (1997) 239:45-8). Mutations in the alpha-synuclein gene co-segregate with rare familial forms of parkinsonism (Kruger et al., *Nature Gen.* (1998) 18:106-8; Polymeropoulos, et al., *Science* (1997) 276:2045-7). Over expression of alpha synuclein in transgenic mice (Masliah et al., *Science* (2000) 287:1265-9) and *Drosophila* (Feany et al., *Nature* (2000) 404:394-8) mimics several pathological aspects of Lewy body disease. In addition, it has been suggested that soluble oligomers of synuclein may be neurotoxic (Conway KA, et al., *Proc Natl Acad Sci USA* (2000) 97:571-576; VollesMJ, Lansbury PT, Jr *Biochemistry* (2003) 42:7871-7878). The accumulation of alpha-synuclein with similar morphological and neurological alterations in species and animal models as diverse as humans, mice, and flies suggests that this molecule contributes to the development of Lewy body disease.

SUMMARY OF THE CLAIMED INVENTION

[0005] The invention provides antibodies comprising a mature humanized heavy chain variable region comprising the three Kabat CDRs of SEQ ID NO:11, and being at least 90% identical to SEQ ID NO:11, and a humanized light chain comprising the three Kabat CDRs of SEQ ID NO:4, and being at least 90% identical to SEQ ID NO:4. In some antibodies, the mature heavy chain variable region is at least 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to SEQ ID NO:11 and mature light chain variable region is at least 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to SEQ ID NO:4. In some antibodies position L36 (Kabat numbering) can be occupied by Y or F, position L83 (Kabat numbering) can be occupied by F or L, position H73 (Kabat numbering) can be occupied by N or D and position H93 (Kabat numbering) can be occupied by A or S. In some of such antibodies the amino acid sequence of the mature heavy chain variable region is otherwise that of SEQ ID NO:11 and the amino acid sequence of the mature light chain variable region is otherwise that of SEQ ID NO:4.

[0006] In some antibodies, the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:8 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:3. In some antibodies, the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:8 and the

mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:4. In some antibodies, the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:8 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:5. In some antibodies, the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:9 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:3. In some antibodies, the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:9 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:4. In some antibodies, the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:9 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:5. In some antibodies, the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:10 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:3. In some antibodies, the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:10 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:4. In some antibodies, the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:10 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:5. In some antibodies, the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:11 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:3. In some antibodies, the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:11 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:4. In some antibodies, the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:11 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:5.

[0007] The invention further provides an antibody comprising a humanized heavy chain comprising the three Kabat CDRs of SEQ ID NO:11 and a humanized light chain comprising the three CDRs of SEQ ID NO:4 provided that position L36 (Kabat numbering) is occupied by F or Y and/or position L83 (Kabat numbering) is occupied by L or F and/or position H73 (Kabat numbering) is occupied by D or N, and/or position H93 (Kabat numbering) is occupied by S or A. In some such antibodies, position L36 (Kabat numbering) is occupied by F and position H73 (Kabat

numbering) is occupied by D, and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S. In some such antibodies, position L36 is occupied by F. In some such antibodies, position L83 is occupied by L. In some such antibodies position H73 is occupied by D. In some such antibodies, position H93 is occupied by A. In some such antibodies, position L36 is occupied by F and position L83 is occupied by L. In some such antibodies, position L36 is occupied by F and position H73 is occupied by D. In some such antibodies, position L36 is occupied by F and position H93 is occupied by A. In some such antibodies, position L36 is occupied by F, position L83 is occupied by L and position H73 is occupied by D. In some such antibodies, position L36 is occupied by F, position L83 is occupied by L and position H93 is occupied by A. In some such antibodies, position L36 is occupied by F, position L83 is occupied by L, position H73 is occupied by D and position H93 is occupied by A. In some such antibodies, residues at positions L36, L83, H73 and H93 (Kabat numbering) are occupied by amino acids as indicated in Table 1 is occupied by F and position H73 (Kabat numbering) is occupied by D, and position H93 (Kabat numbering) is occupied by A. In some such antibodies, position L36 (Kabat numbering) is occupied by F and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S. In some such antibodies, position H73 (Kabat numbering) is occupied by D and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S. In some such antibodies, position H73 (Kabat numbering) is occupied by D and position H93 (Kabat numbering) is occupied by A. In some such antibodies, position H93 (Kabat numbering) is occupied by S. In some such antibodies, position H73 (Kabat numbering) is occupied by N. In some such antibodies, position L36 (Kabat numbering) is occupied by F, position L83 (Kabat numbering) is occupied by L, position H73 (Kabat numbering) is occupied by D, and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S. In some such antibodies, position L36 (Kabat numbering) is occupied by F, position L83 (Kabat numbering) is occupied by L and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S.

[0008] In any of the above antibodies, the mature heavy chain variable region can be fused to a heavy chain constant region and the mature light chain constant region can be fused to a light chain constant region.

[0009] In any of the above antibodies, the heavy chain constant region can be a mutant form of natural human constant region which has reduced binding to an Fc γ receptor relative to the natural human constant region.

[0010] In any of the above antibodies, the heavy chain constant region can be of human IgG1 isotype. In some antibodies the allotype is G1m3. In some antibodies, the allotype is G1m1.

[0011] The invention further provides a nucleic acid encoding any of the above-mentioned mature heavy chain variable regions and/or any of the above-mentioned mature light chain variable region, e.g., SEQ ID NO:15, 17, 18, 19, and 20.

[0012] The invention further provides a host cell comprising a vector comprising any of the nucleic acids described above.

[0013] The invention further provides a method of treating a patient having or at risk of a Lewy body disease, comprising administering to the patient an effective regime of any of the above-mentioned antibodies. In some methods, the disease is Parkinson's disease. In some methods, decline of cognitive function in the patient is inhibited. In some methods, neuritic and/or axonal alpha synuclein aggregates are reduced. In some methods, neuritic dystrophy in the patient is reduced. In some methods, synaptic and/or dendritic density is preserved. In some methods, the method preserves synaptophysin and/or MAP2 in the patient.

[0014] The invention further provides a method of treating a patient having or at risk of synucleinopathy, comprising administering to the patient an effective regime of any of the above-mentioned antibodies. In some methods, the disease is Parkinson's disease. In some methods, the disease is REM sleep behavior disorder (RBD). In some methods, the disease is Dementia with Lewy Bodies (DLB) or multiple system atrophy (MSA). In some methods, decline of cognitive function in the patient is inhibited. In some methods, neuritic and/or axonal alpha synuclein aggregates are reduced. In some methods, neuritic dystrophy in the patient is reduced. In some methods, synaptic and/or dendritic density is preserved. In some methods, the method preserves synaptophysin and/or MAP2 in the patient.

[0015] The invention further provides methods of detecting Lewy bodies in a patient having or at risk of a Lewy body disease, comprising administering to the patient an effective amount of any of the above-mentioned antibodies, wherein the antibody binds to Lewy bodies and bound antibody is detected. In some methods, the disease is Parkinson's disease. In some methods, the disease is Dementia with Lewy Bodies (DLB) or multiple system atrophy (MSA). In some methods, the antibody is labeled.

[0016] The invention further provides a method of reducing Lewy body formation in a patient having or at risk of a Lewy body disease, comprising administering to the

patient an effective amount of any of the above-mentioned antibodies. In some methods, the disease is Parkinson's disease. In some methods, the disease is Dementia with Lewy Bodies (DLB) or multiple system atrophy (MSA). In some methods, decline of cognitive function in the patient is inhibited. In some methods, neuritic and/or axonal alpha synuclein aggregates are reduced. In some methods, neuritic dystrophy in the patient is reduced. In some methods, synaptic and/or dendritic density is preserved. In some methods, the method preserves synaptophysin and/or MAP2 in the patient.

[0017] The invention further provides a method of inhibiting synuclein aggregation or clearing Lewy bodies or synuclein aggregates in a patient having or at risk of a Lewy body disease, comprising administering to the patient an effective amount of any of the above-mentioned antibodies. In some methods, the disease is Parkinson's disease. In some methods, the disease is Dementia with Lewy Bodies (DLB) or multiple system atrophy (MSA). In some methods, decline of cognitive function in the patient is inhibited. In some methods, neuritic and/or axonal alpha synuclein aggregates are reduced. In some methods, neuritic dystrophy in the patient is reduced. In some methods, synaptic and/or dendritic density is preserved. In some methods, the method preserves synaptophysin and/or MAP2 in the patient.

[0018] The invention further provides a pharmaceutical composition comprising any of the above-mentioned antibodies.

[0019] The invention further provides a method of producing an antibody, comprising culturing cells transformed with nucleic acids encoding the heavy and light chains of the antibody, so that the cell secrete the antibody; and purifying the antibody from cell culture media; wherein the antibody is any of the antibodies described above.

[0020] The invention further provides a method producing a cell line producing an antibody, comprising introducing a vector encoding heavy and light chains of an antibody and a selectable marker into cells; propagating the cells under conditions to select for cells having increased copy number of the vector; isolating single cells from the selected cell; and banking cells cloned from a single cell selected based on yield of antibody; wherein the antibody is any of the antibodies described above. Some such methods further comprises propagating the cells under selective conditions and screening for cell lines naturally expressing and secreting at least 100 mg/L/10⁶ cells/24 h.

BRIEF DESCRIPTION OF THE FIGURES

[0021] **FIG. 1** shows an alignment of the amino acid sequences of the parental murine mAb (referred to as m9E4) with the humanized 9E4 heavy chain mature variable region. 1791009Hu9E4VHFr (SEQ ID NO:7) is human acceptor V_H sequence. CDR regions according to Kabat definition are underlined and in bold.

[0022] **FIG. 2** shows an alignment of the amino acid sequences of the parental murine mAb (referred to as m9E4) with the humanized 9E4 light chain mature variable region. 63102889Hu9E4VLFr (SEQ ID NO:2) is human acceptor V_L sequence. CDR regions according to Kabat definition are underlined and in bold.

[0023] **FIG. 3** shows the results of passive immunotherapy with 9E4 on memory performance in probe portion of the Morris water maze test.

[0024] **FIG. 4** shows the results of passive immunotherapy with 9E4 on speed and errors in the round beam test.

[0025] **FIG. 5** shows immunoprecipitation of various versions of humanized 9E4 antibodies towards its antigen taken from diseased tissue. Ch9E4: chimeric 9E4; H1L3: Hu9E4VHv1- Hu9E4VLv3; H3L2: Hu9E4VHv3- Hu9E4VLv2; H3L3: Hu9E4VHv3- Hu9E4VLv3; N.S.=non-specific.

[0026] **FIG. 6** shows Western blotting of recombinant human synuclein with mouse, chimeric and humanized 9E4 antibodies.

BRIEF DESCRIPTION OF THE SEQUENCES

[0027] SEQ ID NO:1 is the amino acid sequence of m9E4VL variable region.

[0028] SEQ ID NO:2 is the amino acid sequence of 63102889Hu9E4VLFr variable region.

[0029] SEQ ID NO:3 is the amino acid sequence of Hu9E4VLv1 variable region.

[0030] SEQ ID NO:4 is the amino acid sequence of Hu9E4VLv2 variable region.

[0031] SEQ ID NO:5 is the amino acid sequence of Hu9E4VLv3 variable region.

[0032] SEQ ID NO:6 is the amino acid sequence of m9E4VH variable region.

[0033] SEQ ID NO:7 is the amino acid sequence of 1791009Hu9E4VHFr variable region.

- [0034] SEQ ID NO:8 is the amino acid sequence of Hu9E4VHv1 variable region.
- [0035] SEQ ID NO:9 is the amino acid sequence of Hu9E4VHv2 variable region.
- [0036] SEQ ID NO:10 is the amino acid sequence of Hu9E4VHv3 variable region.
- [0037] SEQ ID NO:11 is the amino acid sequence of Hu9E4VHv4 variable region.
- [0038] SEQ ID NO:12 is the amino acid sequence of natural human wild-type alpha-synuclein.
- [0039] SEQ ID NO:13 is the amino acid sequence of humanized 9E4 light chain constant region, with Arginine at the N-terminus.
- [0040] SEQ ID NO:14 is the amino acid sequence of humanized 9E4 heavy chain constant region .
- [0041] SEQ ID NO:15 is the nucleotide sequence of Hu9E4VLv1 variable region.
- [0042] SEQ ID NO:16 is the nucleotide sequence of Hu9E4VLv2 variable region.
- [0043] SEQ ID NO:17 is the nucleotide sequence of Hu9E4VLv3 variable region.
- [0044] SEQ ID NO:18 is the nucleotide sequence of Hu9E4VHv1 variable region.
- [0045] SEQ ID NO:19 is the nucleotide sequence of Hu9E4VHv2 variable region.
- [0046] SEQ ID NO:20 is the nucleotide sequence of Hu9E4VHv3 variable region.
- [0047] SEQ ID NO:21 is the nucleotide sequence of Hu9E4VHv4 variable region.
- [0048] SEQ ID NO:22 is the amino acid sequence of Hu9E4VL signal peptide.
- [0049] SEQ ID NO:23 is the nucleotide sequence of Hu9E4VL signal peptide.
- [0050] SEQ ID NO:24 is the amino acid sequence of Hu9E4VH signal peptide.
- [0051] SEQ ID NO:25 is the nucleotide sequence of Hu9E4VH signal peptide.
- [0052] SEQ ID NO:26 is the Hu9E4VL consensus amino acid sequence.
- [0053] SEQ ID NO:27 is the Hu9E4VH consensus amino acid sequence.
- [0054] SEQ ID NO:28 is the amino acid sequence of humanized 9E4 light chain constant region, without the Arginine at the N-terminus.

[0055] SEQ ID NO:29 is the amino acid sequence of the version 3 humanized 9E4 light chain comprising (a) a variable region and (b) a constant region with Arginine at the N-terminus.

[0056] SEQ ID NO:30 is the amino acid sequence of the version 3 humanized 9E4 light chain comprising (a) a variable region and (b) a constant region without the Arginine at the N-terminus.

[0057] SEQ ID NO:31 is the amino acid sequence of the version 3 humanized 9E4 heavy chain comprising a variable region and a constant region.

[0058] SEQ ID NO:32 is the amino acid sequence of the BIP version of humanized 9E4 heavy chain G1m3 allotype constant region.

DEFINITIONS

[0059] Monoclonal antibodies are typically provided in isolated form. This means that an antibody is typically at least 50% w/w pure of proteins and other macromolecules arising from its production or purification but does not exclude the possibility that the monoclonal antibody is combined with an excess of pharmaceutical acceptable carrier(s) or other vehicle intended to facilitate its use. Sometimes monoclonal antibodies are at least 60%, 70%, 80%, 90%, 95 or 99% w/w pure of proteins and other macromolecules from production or purification.

[0060] Specific binding of a monoclonal antibody to its target antigen means an affinity of at least 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , or 10^{10} M^{-1} . Specific binding is detectably higher in magnitude and distinguishable from non-specific binding occurring to at least one unrelated target. Specific binding can be the result of formation of bonds between particular functional groups or particular spatial fit (e.g., lock and key type) whereas nonspecific binding is usually the result of van der Waals forces. Specific binding does not however necessarily imply that a monoclonal antibody binds one and only one target.

[0061] The basic antibody structural unit is a tetramer of subunits. Each tetramer includes two identical pairs of polypeptide chains, each pair having one "light" (about 25 kDa) and one "heavy" chain (about 50-70 kDa). The amino-terminal portion of each chain includes variable region of about 100 to 110 or more amino acids primarily responsible for antigen recognition. This variable region is initially expressed linked to a cleavable signal peptide. The variable region without the signal peptide is

sometimes referred to as a mature variable region. Thus, for example, a light chain mature variable region means a light chain variable region without the light chain signal peptide. The carboxy-terminal portion of each chain defines a constant region primarily responsible for effector function.

[0062] Light chains are classified as either kappa or lambda. Heavy chains are classified as gamma, mu, alpha, delta, or epsilon, and define the antibody's isotype as IgG, IgM, IgA, IgD and IgE, respectively. Within light and heavy chains, the variable and constant regions are joined by a "J" region of about 12 or more amino acids, with the heavy chain also including a "D" region of about 10 or more amino acids. (See generally, *Fundamental Immunology* (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y., 1989, Ch. 7, incorporated by reference in its entirety for all purposes).

[0063] The mature variable regions of each light/heavy chain pair form the antibody binding site. Thus, an intact antibody has two binding sites. Except in bifunctional or bispecific antibodies, the two binding sites are the same. The chains all exhibit the same general structure of relatively conserved framework regions (FR) joined by three hypervariable regions, also called complementarity determining regions or CDRs. The CDRs from the two chains of each pair are aligned by the framework regions, enabling binding to a specific epitope. From N-terminal to C-terminal, both light and heavy chains comprise the domains FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 and FR4. The assignment of amino acids to each domain is in accordance with the definitions of Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1987 and 1991), or Chothia & Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987); Chothia et al., *Nature* 342:878-883 (1989). Kabat also provides a widely used numbering convention (Kabat numbering) in which corresponding residues between different heavy chains or between different light chains are assigned the same number (e.g., H83 means position 83 by Kabat numbering in the mature heavy chain variable region; likewise position L36 means position 36 by Kabat numbering in the mature light chain variable region).

[0064] The term "antibody" includes intact antibodies and binding fragments thereof. Typically, fragments compete with the intact antibody from which they were derived for specific binding to the target including separate heavy chains, light chains Fab, Fab', F(ab')₂, F(ab)₂c, diabodies, Dabs, nanobodies, and Fv. Fragments can be produced by recombinant DNA techniques, or by enzymatic or chemical separation of intact immunoglobulins. The term "antibody" also includes a bispecific antibody

and/or a humanized antibody. A bispecific or bifunctional antibody is an artificial hybrid antibody having two different heavy/light chain pairs and two different binding sites (see, *e.g.*, Songsivilai and Lachmann, Clin. Exp. Immunol., 79:315-321 (1990); Kostelny et al., J. Immunol. 148:1547-53 (1992)). In some bispecific antibodies, the two different heavy/light chain pairs include a humanized 9E4 heavy chain/light chain pair and a heavy chain/light chain pair specific for a different epitope on alpha synuclein than that bound by 9E4. Humanized antibodies are discussed generally below in Section IV B.

[0065] The term “epitope” refers to a site on an antigen to which an antibody binds. An epitope can be formed from contiguous amino acids or noncontiguous amino acids juxtaposed by tertiary folding of one or more proteins. Epitopes formed from contiguous amino acids are typically retained on exposure to denaturing solvents whereas epitopes formed by tertiary folding are typically lost on treatment with denaturing solvents. An epitope typically includes at least 3, and more usually, at least 5 or 8-10 amino acids in a unique spatial conformation. Methods of determining spatial conformation of epitopes include, for example, x-ray crystallography and 2-dimensional nuclear magnetic resonance. See, *e.g.*, Epitope Mapping Protocols, in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, Glenn E. Morris, Ed. (1996).

[0066] Antibodies that recognize the same or overlapping epitopes can be identified in a simple immunoassay showing the ability of one antibody to compete with the binding of another antibody to a target antigen. The epitope of an antibody can also be defined by X-ray crystallography of the antibody bound to its antigen to identify contact residues. Alternatively, two antibodies have the same epitope if all amino acid mutations in the antigen that reduce or eliminate binding of one antibody reduce or eliminate binding of the other. Two antibodies have overlapping epitopes if some amino acid mutations that reduce or eliminate binding of one antibody reduce or eliminate binding of the other.

[0067] Competition between antibodies is determined by an assay in which an antibody under test inhibits specific binding of a reference antibody to a common antigen (see, *e.g.*, Junghans et al., Cancer Res. 50:1495, 1990). A test antibody competes with a reference antibody if an excess of a test antibody (*e.g.*, at least 2x, 5x, 10x, 20x or 100x) inhibits binding of the reference antibody by at least 50% but preferably 75%, 90% or 99% as measured in a competitive binding assay. Antibodies identified by competition assay (competing antibodies) include antibodies binding to

the same epitope as the reference antibody and antibodies binding to an adjacent epitope sufficiently proximal to the epitope bound by the reference antibody for steric hindrance to occur.

[0068] A “patient” includes a human or other mammalian subject that receives either prophylactic or therapeutic treatment.

[0069] For purposes of classifying amino acids substitutions as conservative or nonconservative, amino acids are grouped as follows: Group I (hydrophobic side chains): met, ala, val, leu, ile; Group II (neutral hydrophilic side chains): cys, ser, thr; Group III (acidic side chains): asp, glu; Group IV (basic side chains): asn, gln, his, lys, arg; Group V (residues influencing chain orientation): gly, pro; and Group VI (aromatic side chains): trp, tyr, phe. Conservative substitutions involve substitutions between amino acids in the same class. Non-conservative substitutions constitute exchanging a member of one of these classes for a member of another.

[0070] Percentage sequence identities are determined with antibody sequences maximally aligned by the Kabat numbering convention. After alignment, if a subject antibody region (e.g., the entire mature variable region of a heavy or light chain) is being compared with the same region of a reference antibody, the percentage sequence identity between the subject and reference antibody regions is the number of positions occupied by the same amino acid in both the subject and reference antibody region divided by the total number of aligned positions of the two regions, with gaps not counted, multiplied by 100 to convert to percentage.

[0071] Compositions or methods “comprising” one or more recited elements may include other elements not specifically recited. For example, a composition that comprises antibody may contain the antibody alone or in combination with other ingredients.

[0072] Designation of a range of values includes all integers within or defining the range, and all subranges defined by integers within the range.

[0073] Unless otherwise apparent from the context, the term “about” encompasses values within the SEM of a stated value.

[0074] An individual is at increased risk of a disease if the subject has at least one known risk-factor (e.g., genetic, biochemical, family history, situational exposure) placing individuals with that risk factor at a statistically significant greater risk of developing the disease than individuals without the risk factor.

[0075] The term "symptom" refers to a subjective evidence of a disease, such as altered gait, as perceived by the patient. A "sign" refers to objective evidence of a disease as observed by a physician.

[0076] Statistical significance means $p \leq 0.05$.

[0077] "Cognitive function" refers to mental processes such as any or all of attention, memory, producing and understanding language, solving problems, and making an interest in one's surroundings and self-care.

[0078] "Enhanced cognitive function" or "improved cognitive function" refers to improvement relative to a baseline, for example, diagnosis or initiation of treatment. "Decline of cognitive function" refers to a decrease in function relative to such a baseline.

[0079] In animal model systems such as rat or mouse, cognitive function may be measured by methods using a maze in which subjects use spatial information (e.g., Morris water maze, Barnes circular maze, elevated radial arm maze, T maze and others), fear conditioning, active avoidance, illuminated open-field, dark activity meter, elevated plus-maze, two-compartment exploratory test or forced swimming test.

[0080] In humans, cognitive function can be measured by one or more of several standardized tests. Examples of a test or assay for cognitive function were described (Ruoppila, I. and Suutama, T. Scand. J. Soc. Med. Suppl. 53,44-65, 1997) and include standardized psychometric tests (e. g. Wechsler Memory Scale, the Wechsler Adult Intelligence Scale, Raven's Standard Progressive Matrices, Schaie- Thurstone Adult Mental Abilities Test), neuropsychological tests (e. g. Luria-Nebraska), metacognitive self-evaluations (e. g. Metamemory Questionnaire), visual-spatial screening tests (e. g. Poppelreuter's Figures, Clock Recognition, Honeycomb Drawing and Cancellation), cognitive screening tests (e. g. Folstein's Mini Mental State Test) and reaction time tests. Other standard tests for cognitive performance include the Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale (ADAS-cog); the clinical global impression of change scale (CIBIC-plus scale); the Alzheimer's Disease Cooperative Study Activities of Daily Living Scale (ADCS-ADL); the Mini Mental State Exam (MMSE); the Neuropsychiatric Inventory (NPI); the Clinical Dementia Rating Scale (CDR); the Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery

(CANTAB) or the Sandoz Clinical Assessment- Geriatric (SCAG), Stroop Test, Trail Making, Wechsler Digit Span, and the CogState computerized cognitive test. In addition, cognitive function may be measured using imaging techniques such as Positron Emission Tomography (PET), functional magnetic resonance imaging (fMRI), Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT), or any other imaging technique that allows one to measure brain function.

DETAILED DESCRIPTION

I. General

[0081] The invention provides humanized 9E4 antibodies. The antibodies are useful for treatment and diagnoses of a Lewy body disease.

II. Target molecules

[0082] Natural human wildtype alpha-synuclein is a peptide of 140 amino acids having the following amino acid sequence:

MDVFMKGLSK AKEGVVAAAE KTKQGVAAEA GKTKEGVLYV
GSKTKEGVVH GVATVAEKTQ EQVTNVGGAV VTGVTAVAQK
TVEGAGSIAA ATGFVKKDQL GKNEEGAPQE GILEDMPVDP DNEAYEMPSE
EGYQDYEPEA (SEQ ID NO:12)

(Ueda et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1993) 90:11282-6).; GenBank accession number: P37840). The protein has three recognized domains, a KTKE repeat domain covering amino acids 1-61, a NAC (Non-amyloid component) domain running from about amino acids 60-95, and a C-terminal acidic domain running from about amino acid 98 to 140.

[0083] Unless otherwise apparent from the context, reference to alpha-synuclein or its fragments includes the natural human wildtype amino acid sequences indicated above, and human allelic variants thereof, particularly those associated with Lewy body disease (e.g., E46K, A30P and A53T, with the first letter indicates the amino acid in SEQ ID NO:12, the number is the codon position in SEQ ID NO:12, and the second letter is the amino acid in the allelic variant). Such variants can optionally be present individually or in any combination in any of the aspect of the invention described below. The induced mutations E83Q, A90V, A76T, which enhance alpha synuclein aggregation, can also be present individually or in combination with each other and/or human allelic variants E46K, A30P and A53T.

III. Lewy Body Diseases

[0084] Lewy Body Diseases (LBD) are characterized by degeneration of the dopaminergic system, motor alterations, cognitive impairment, and formation of Lewy bodies (LBs). (McKeith et al., *Neurology* (1996) 47:1113-24). Lewy Bodies are spherical protein deposits found in nerve cells. Their presence in the brain disrupts the brain's normal function interrupting the action of chemical messengers including acetylcholine and dopamine. Lewy Body diseases include Parkinson's disease (including idiopathic Parkinson's disease), Diffuse Lewy Body Disease (DLBD) also known as Dementia with Lewy Bodies (DLB), Lewy body variant of Alzheimer's disease (LBV), Combined Alzheimer's and Parkinson disease and as multiple system atrophy (MSA; *e.g.*, Olivopontocerebellar Atrophy, Striatonigral Degeneration and Shy-Drager Syndrome). DLBD shares symptoms of both Alzheimer's and Parkinson's disease. DLBD differs from Parkinson's disease mainly in the location of Lewy Bodies. In DLBD Lewy Bodies form mainly in the cortex. In Parkinson's disease, they form mainly in the substantia nigra. Other Lewy Body diseases include Pure Autonomic Failure, Lewy body dysphagia, Incidental LBD, and Inherited LBD (*e.g.*, mutations of the alpha-synuclein gene, PARK3 and PARK4).

IV. Antibodies of the Invention

A. Binding Specificity and Functional Properties

[0085] Humanized antibodies of the invention specifically bind to human alpha synuclein. The affinity of some humanized antibodies (*i.e.*, K_a) is preferably within a factor of five or two of that of the mouse antibody 9E4. Some humanized antibodies have an affinity that is the same (within experimental error) or greater than that of the mouse 9E4 antibody. Preferred humanized antibodies bind to the same epitope and/or compete with the mouse antibody 9E4 for binding to human alpha synuclein.

[0086] In some antibodies, humanized 9E4 forms one arm of a bispecific antibody, the other arm of which is an antibody that binds to a receptor expressed on the blood brain barrier, such as an insulin receptor, an insulin-like growth factor (IGF) receptor, a leptin receptor, or a lipoprotein receptor, or preferably a transferrin receptor (Friden et al., *PNAS* 88:4771-4775, 1991; Friden et al., *Science* 259:373-377, 1993). Such a bispecific antibody can be transferred cross the blood brain barrier by receptor-

mediated transcytosis. Brain uptake of the bispecific antibody can be further enhanced by engineering the bi-specific antibody to reduce its affinity to the blood brain barrier receptor. Reduced affinity for the receptor resulted in a broader distribution in the brain (see, e.g., Atwal. et al. *Sci. Trans. Med.* **3**, 84ra43, 2011; Yu et al. *Sci. Trans. Med.* **3**, 84ra44, 2011).

[0087] Exemplary bispecific antibodies can also be (1) a dual-variable-domain antibody (DVD-Ig), where each light chain and heavy chain contains two variable domains in tandem through a short peptide linkage (Wu et al., Generation and Characterization of a Dual Variable Domain Immunoglobulin (DVD-Ig™) Molecule, In: Antibody Engineering, Springer Berlin Heidelberg (2010)); (2) a Tandab, which is a fusion of two single chain diabodies resulting in a tetravalent bispecific antibody that has two binding sites for each of the target antigens; (3) a flexibody, which is a combination of scFvs with a diabody resulting in a multivalent molecule; (4) a so called "dock and lock" molecule, based on the "dimerization and docking domain" in Protein Kinase A, which, when applied to Fabs, can yield a trivalent bispecific binding protein consisting of two identical Fab fragments linked to a different Fab fragment; (5) a so-called Scorpion molecule, comprising, e.g., two scFvs fused to both termini of a human Fc-region. Examples of platforms useful for preparing bispecific antibodies include but are not limited to BiTE (Micromet), DART (MacroGenics), Fcab and Mab2 (F-star), Fc-engineered IgG1 (Xencor) or DuoBody (based on Fab arm exchange, Genmab).

B. Humanized Antibodies

[0088] A humanized antibody is a genetically engineered antibody in which the CDRs from a non-human "donor" antibody are grafted into human "acceptor" antibody sequences (see, e.g., Queen et al., US5,530,101 and 5,585,089; Winter et al., US 5,225,539, Carter, US 6,407,213, Adair, US 5,859,205 6,881,557, Foote, US 6,881,557). The acceptor antibody sequences can be, for example, a mature human antibody variable region sequence, a composite of such sequences, a consensus sequence of human antibody sequences (e.g., light and heavy chain variable region consensus sequences of Kabat, 1991, supra), or a germline variable region sequence. A preferred acceptor sequence for the heavy chain is the human mature heavy chain variable region with NCBI accession code AAC50998 (GI: 1791009) or other mature heavy chain variable region derived from germline IGHV3-7'01 or IGHV3-7'02 (clones name V3-7 or VH3-11) (Glas et al., Clin Exp Immunol. 107:372-80, 1997) or

a mature heavy chain variable region sequence incorporating one of these germ line sequences. For the light chain, a preferred acceptor sequence is the light chain mature variable region with NCBI accession code AAY33350 (GI:63102889) or other mature light chain sequence derived from the germline IGKV1D-39 or IGKV1-39 (clone name O2 or O12) (Kramer et al., Eur J Immunol. 35:2131-45, 2005) or a light chain mature variable region sequence incorporating one of these germ line sequences. Thus, a humanized antibody of the invention is an antibody having three light chain and three heavy chain CDRs as defined by Kabat from the donor 9E4 antibody and mature variable region framework sequences and constant regions, if present, entirely or substantially from human antibody sequences. Likewise a humanized heavy chain is a heavy chain having three heavy chain CDRs as defined by Kabat from the heavy chain of the 9E4 antibody, and a mature heavy chain variable sequence and heavy chain constant region sequence, if present, entirely or substantially from human antibody heavy chain sequence. Likewise a humanized light chain is a light chain having three light chain CDRs as defined by Kabat from the light chain of the 9E4 antibody, and a mature light chain variable sequence and light chain constant region sequence, if present, entirely or substantially from human antibody light chain sequence. The mature variable region framework sequences of an antibody chain or the constant region sequence of an antibody chain are substantially from a human mature variable region framework sequence or human constant region sequence respectively when at least 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% or 100% of corresponding residues defined by Kabat are identical.

[0089] Certain amino acids from the human mature variable region framework residues can be selected for substitution based on their possible influence on CDR conformation and/or binding to antigen. Investigation of such possible influences is by modeling, examination of the characteristics of the amino acids at particular locations, or empirical observation of the effects of substitution or mutagenesis of particular amino acids.

[0090] For example, when an amino acid differs between a murine mature variable region framework residue and a selected human mature variable region framework residue, the human framework amino acid can be substituted by the equivalent framework amino acid from the mouse antibody when it is reasonably expected that the amino acid:

- (1) noncovalently binds antigen directly,

- (2) is adjacent to a CDR region,
- (3) otherwise interacts with a CDR region (e.g. is within about 6 Å of a CDR region)
- (4) mediates interaction between the heavy and light chains.

[0091] The invention provides humanized forms of the mouse 9E4 antibody including three exemplified humanized light chain mature variable regions (Hu9E4VLv1-v3; SEQ ID NOs:3-5) and four exemplified humanized heavy chain mature variable regions (Hu9E4VHv1-v4; SEQ ID NOs:8-11). SEQ ID NO:4 includes the three Kabat CDRs of the mouse 9E4 light chain and the mature variable region frameworks of AAY33350. SEQ ID NOS. 3 and 5 include backmutations as shown in Table 2. SEQ ID NO. 11 includes the three Kabat CDRs of mouse 9E4 and the mature variable region frameworks of AAC50998. SEQ ID NOs:8-10 include backmutations as shown in Table 3.

[0092] The invention provides variants of the humanized 9E4 antibody in which the humanized heavy chain mature variable region shows at least 90%, 95% or 99% identity to SEQ ID NOs:8-11 and the humanized light chain mature variable region shows at least 90, 95 or 99% sequence identity to SEQ ID NOs:3-5, but in which any variation from the designated SEQ ID NO. occurs in a mature variable region framework rather than a Kabat CDR. In some such antibodies, position L36 is occupied by Y or F, and/or position L83 is occupied by F or L, and/or position H73 is occupied by N or D and/or position H93 is occupied by A or S (all positions here, as elsewhere, in this application are by Kabat numbering). In some such antibodies, some or all of the backmutations in Hu9E4VLv1-v3 and Hu9E4VHv1-v4 are retained. In other words, one or both of heavy chain positions H73 and H93 is occupied by D and A respectively. Likewise in some antibodies one or both of light chain positions L36 and L83 is occupied by F and L respectively. In some antibodies, 1, 2, 3 or all four of positions H73, H93, L36 and L83 is/are occupied by D, A, F and L respectively. In some antibodies, 0, 1, or 2 positions are changed in the heavy chain mature variable region framework relative to SEQ ID NO:11, and 0, 1, or 2 positions are change in the light chain mature variable region framework relative to SEQ ID NO:4.

[0093] Some antibodies comprise a humanized heavy chain comprising the three Kabat CDRs of SEQ ID NO:11 and a humanized light chain comprising the three Kabat CDRs of SEQ ID NO:4 provided that position L36 (Kabat numbering) is

occupied by F or Y and/or position L83 (Kabat numbering) is occupied by L or F and/or position H73 (Kabat numbering) is occupied by D or N , and/or position H93 (Kabat numbering) is occupied by S or A. In some such antibodies, position L36 (Kabat numbering) is occupied by F. In some such antibodies, position L36 (Kabat numbering) is occupied by F and position L83 (Kabat numbering) is occupied by L. In some such antibodies, position L36 (Kabat numbering) is occupied by F and position H73 (Kabat numbering) is occupied by D. In some such antibodies, position L36 (Kabat numbering) is occupied by F and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S. In some such antibodies, position L36 (Kabat numbering) is occupied by F and position H93 (Kabat numbering) is occupied by A. In some such antibodies, position L36 (Kabat numbering) is occupied by F, position L83 (Kabat numbering) is occupied by L, and position H73 (Kabat numbering) is occupied by D. In some such antibodies, position L36 (Kabat numbering) is occupied by F, position L83 (Kabat numbering) is occupied by L, and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S. In some such antibodies, position L36 (Kabat numbering) is occupied by F, position L83 (Kabat numbering) is occupied by L, and position H93 (Kabat numbering) is occupied by A. In some such antibodies, position L36 (Kabat numbering) is occupied by F, position H73 (Kabat numbering) is occupied by D, and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S. In some such antibodies, position L36 (Kabat numbering) is occupied by F, position L83 is occupied by F, position H73 (Kabat numbering) is occupied by D, and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S. In some such antibodies, position L36 (Kabat numbering) is occupied by F, position H73 (Kabat numbering) is occupied by D, and position H93 (Kabat numbering) is occupied by A. In some such antibodies, position L36 (Kabat numbering) is occupied by F, position L83 (Kabat numbering) is occupied by L, position H73 (Kabat numbering) is occupied by D, and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S. In some such antibodies, position L36 (Kabat numbering) is occupied by F, position L83 (Kabat numbering) is occupied by L, position H73 (Kabat numbering) is occupied by D, and position H93 (Kabat numbering) is occupied by A. In some such antibodies, position L83 (Kabat numbering) is occupied by L. In some such antibodies, position L83 (Kabat numbering) is occupied by L and position H73 (Kabat numbering) is occupied by D. In some such antibodies, position L83 (Kabat numbering) is occupied by L and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S. In some such antibodies, position L83 (Kabat numbering) is occupied by L and

position H93 (Kabat numbering) is occupied by A. In some such antibodies, position L83 (Kabat numbering) is occupied by L, position H73 (Kabat numbering) is occupied by D, and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S. In some such antibodies, position L83 (Kabat numbering) is occupied by L, position H73 (Kabat numbering) is occupied by D, and position H93 (Kabat numbering) is occupied by A. In some such antibodies, position H73 (Kabat numbering) is occupied by D. In some such antibodies, position H73 (Kabat numbering) is occupied by D and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S. In some such antibodies, position H73 (Kabat numbering) is occupied by D and position H93 (Kabat numbering) is occupied by A. In some such antibodies, position H93 (Kabat numbering) is occupied by S. In some such antibodies, position H93 (Kabat numbering) is occupied by A. In some such antibodies, position L36 is occupied by Y, position L83 is occupied by F, position H73 is occupied by N and position H93 is occupied by S. Some exemplary antibodies with desirable residues at positions L36, L83, H73, and H93 and combinations thereof are listed in Table 1 below:

Table 1: Exemplary antibodies with desirable residues at positions L36, L83, H73, and H93 (Kabat numbering).

Exemplary Antibody	L36	L83	H73	H93
1	F	F	N	A
2	F	L	N	A
3	F	F	D	A
4	F	F	N	S
5 (version 3)	F	L	D	A
6	F	L	N	S
7 (version 1)	F	F	D	S
8	F	L	D	S
9	Y	L	N	A
10	Y	L	D	A
11	Y	L	N	S
12	Y	L	D	S
13	Y	F	D	A
14	Y	F	D	S
15 (version 2)	Y	F	N	S

[0094] In some antibodies, the heavy chain mature variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:10. In some antibodies, the light chain mature variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:5 or SEQ ID NO:3. In some such antibodies, the heavy chain mature variable region has an amino

acid sequence designated SEQ ID NO:10, and the light chain mature variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:5 or SEQ ID NO:3. In some such antibodies, the heavy chain mature variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:10, and the light chain mature variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:5.

[0095] Other amino acid substitutions can be made in the mature variable region framework, for example, in residues not in contact with the CDRs. Often the replacements made in the variant humanized sequences are conservative with respect to the replaced amino acids. In some antibodies, replacements relative to Hu9E4VLv1-v3 and Hu9E4VHv1-v4 (whether or not conservative) have no substantial effect on the binding affinity or potency of the resultant antibody relative to Hu9E4VLv1-v3 and Hu9E4VHv1-v4, that is, its ability to bind human alpha synuclein.

[0096] Variants typically differ from the heavy and light chain mature variable region sequences of Hu9E4VLv1-v3 and Hu9E4VHv1-v4 by a small number (e.g., typically no more than 1, 2, 3, 5 or 10 in either the light chain or heavy chain mature variable region framework, or both) of replacements, deletions or insertions.

C. Selection of Constant Region

[0097] The heavy and light chain variable regions of humanized antibodies can be linked to at least a portion of a human constant region. The choice of constant region depends, in part, whether antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, antibody dependent cellular phagocytosis and/or complement dependent cytotoxicity are desired. For example, human isotopes IgG1 and IgG3 have complement-dependent cytotoxicity and human isotypes IgG2 and IgG4 do not. Human IgG1 and IgG3 also induce stronger cell mediated effector functions than human IgG2 and IgG4. Light chain constant regions can be lambda or kappa. An exemplary human light chain kappa constant region has the amino acid sequence of SEQ ID NO:13. Some such light chain kappa constant regions can be encoded by a nucleic acid sequence. The N-terminal arginine of SEQ ID NO:13 can be omitted, in which case light chain kappa constant region has the amino acid sequence of SEQ ID NO:28. Some such light chain kappa constant regions can be encoded by a nucleic acid sequence. An exemplary human IgG1 heavy chain constant region has the amino acid sequence of SEQ ID NO:14 (with or without the C-terminal lysine). Some such heavy chain constant regions can be encoded by a nucleic acid sequence. Antibodies can be

expressed as tetramers containing two light and two heavy chains, as separate heavy chains, light chains, as Fab, Fab', F(ab')₂, and Fv, or as single chain antibodies in which heavy and light chain mature variable domains are linked through a spacer.

[0098] Human constant regions show allotypic variation and isoallotypic variation between different individuals, that is, the constant regions can differ in different individuals at one or more polymorphic positions. Isoallotypes differ from allotypes in that sera recognizing an isoallotype bind to a non-polymorphic region of a one or more other isotypes. Thus, for example, another heavy chain constant region is of IgG1 G1m3 allotype and has the amino acid sequence of SEQ ID NO:32. Yet another heavy chain constant region has the amino acid sequence of SEQ ID NO:32 except that it lacks the C-terminal lysine.

[0099] One or several amino acids at the amino or carboxy terminus of the light and/or heavy chain, such as the C-terminal lysine of the heavy chain, may be missing or derivatized in a proportion or all of the molecules. Substitutions can be made in the constant regions to reduce or increase effector function such as complement-mediated cytotoxicity or ADCC (see, e.g., Winter et al., US Patent No. 5,624,821; Tso et al., US Patent No. 5,834,597; and Lazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:4005, 2006), or to prolong half-life in humans (see, e.g., Hinton et al., J. Biol. Chem. 279:6213, 2004). Exemplary substitutions include a Gln at position 250 and/or a Leu at position 428 (EU numbering is used in this paragraph for the constant region) for increasing the half-life of an antibody. Substitution at any or all of positions 234, 235, 236 and/or 237 reduce affinity for Fcγ receptors, particularly FcγRI receptor (see, e.g., US 6,624,821). Some antibodies have alanine substitution at positions 234, 235 and 237 of human IgG1 for reducing effector functions. Optionally, positions 234, 236 and/or 237 in human IgG2 are substituted with alanine and position 235 with glutamine (see, e.g., US 5,624,821).

D. Expression of Recombinant Antibodies

[0100] Antibodies can be produced by recombinant expression. Nucleic acids encoding the antibodies can be codon-optimized for expression in the desired cell-type (e.g., CHO or Sp2/0). Recombinant nucleic acid constructs typically include an expression control sequence operably linked to the coding sequences of antibody chains, including naturally-associated or heterologous promoter regions. The expression control sequences can be eukaryotic promoter systems in vectors capable

of transforming or transfecting eukaryotic host cells. Once the vector has been incorporated into the appropriate host, the host is maintained under conditions suitable for high level expression of the nucleotide sequences, and the collection and purification of the crossreacting antibodies. The vector or vectors encoding the antibody chains can also contain a selectable gene, such as dihydrofolate reductase, to allow amplification of copy number of the nucleic acids encoding the antibody chains.

[0101] *E. coli* is a prokaryotic host particularly useful for expressing antibodies, particularly antibody fragments. Microbes, such as yeast are also useful for expression. *Saccharomyces* is a preferred yeast host, with suitable vectors having expression control sequences, an origin of replication, termination sequences and the like as desired. Typical promoters include 3-phosphoglycerate kinase and other glycolytic enzymes. Inducible yeast promoters include, among others, promoters from alcohol dehydrogenase, isocytochrome C, and enzymes responsible for maltose and galactose utilizations.

[0102] Mammalian cells can be used for expressing nucleotide segments encoding immunoglobulins or fragments thereof. See Winnacker, *From Genes to Clones*, (VCH Publishers, NY, 1987). A number of suitable host cell lines capable of secreting intact heterologous proteins have been developed in the art, and include CHO cell lines, various COS cell lines, HeLa cells, HEK293 cells, L cells, and non-antibody-producing myelomas including Sp2/0 and NS0. It can be advantageous to use nonhuman cells. Expression vectors for these cells can include expression control sequences, such as an origin of replication, a promoter, an enhancer (Queen et al., *Immunol. Rev.* 89:49 (1986)), and necessary processing information sites, such as ribosome binding sites, RNA splice sites, polyadenylation sites, and transcriptional terminator sequences. Suitable expression control sequences are promoters derived from endogenous genes, cytomegalovirus, SV40, adenovirus, bovine papillomavirus, and the like. See Co et al., *J. Immunol.* 148:1149 (1992).

[0103] Having introduced vector(s) encoding antibody heavy and light chains into cell culture, cell pools can be screened for growth productivity and product quality in serum-free media. Top-producing cell pools can then be subjected to FACS-based single-cell cloning to generate monoclonal lines. Specific productivities above 50 pg or 100 pg per cell per day, which correspond to product titers of greater than 7.5 g/L culture, can be advantageous. Antibodies produced by single cell clones can also be tested for turbidity, filtration properties, PAGE, IEF, UV scan, HP-SEC, carbohydrate-

oligosaccharide mapping, mass spectrometry, and binding assay, such as ELISA or Biacore. A selected clone can then be banked in multiple vials and stored frozen for subsequent use.

[0104] Once expressed, antibodies can be purified according to standard procedures of the art, including protein A capture, column chromatography (e.g., hydrophobic interaction or ion exchange), low-pH for viral inactivation and the like (see generally, Scopes, *Protein Purification* (Springer-Verlag, NY, 1982)).

[0105] Methodology for commercial production of antibodies including codon optimization, selection of promoters, transcription elements, and terminators, serum-free single cell cloning, cell banking, use of selection markers for amplification of copy number, CHO terminator, serum free single cell cloning, improvement of protein titers (see, e.g., US 5,786,464, US 6,114,148, US 6,063,598, US 7,569,339, WO2004/050884, WO2008/012142, WO2008/012142, WO2005/019442, WO2008/107388, and WO2009/027471, and US 5,888,809).

V. Nucleic Acids

[0106] The invention further provides nucleic acids encoding any of the heavy and light chains described above. Typically, the nucleic acids also encode a signal peptide fused to the mature heavy and light chains (e.g., signal peptides having amino acid sequences of SEQ ID NOS: 22 and 24 that can be encoded by SEQ ID NOS: 23 and 25). Coding sequences on nucleic acids can be in operable linkage with regulatory sequences to ensure expression of the coding sequences, such as a promoter, enhancer, ribosome binding site, transcription termination signal and the like. The nucleic acids encoding heavy and light chains can occur in isolated form or can be cloned into one or more vectors. The nucleic acids can be synthesized by for example, solid state synthesis or PCR of overlapping oligonucleotides. Nucleic acids encoding heavy and light chains can be joined as one contiguous nucleic acid, e.g., within an expression vector, or can be separate, e.g., each cloned into its own expression vector.

VI. Therapeutic Applications

[0107] The invention provides several methods of treating or effecting prophylaxis of Lewy Body disease in patients suffering from or at risk of such disease. Patients

amenable to treatment include individuals at risk of disease of a LBD but not showing symptoms, as well as patients presently showing symptoms or the early warning signs of synucleinopathies, for example, EEG slowing, neuropsychiatric manifestations (depression, dementia, hallucinations, anxiety, apathy, anhedonia), autonomic changes (orthostatic hypotension, bladder disturbances, constipation, fecal incontinence, sialorrhea, dysphagia, sexual dysfunction, changes in cerebral blood flow), sensory changes (olfactory, pain, color discrimination abnormal sensations), sleep disorders (REM sleep behavior disorder (RBD), restless legs syndrome/periodic extremity movements, hypersomnia, insomnia) and miscellaneous other signs and symptoms (fatigue, diplopia, blurred vision, seborrhea, weight loss/gain). Therefore, the present methods can be administered prophylactically to individuals who have a known genetic risk of a LBD. Such individuals include those having relatives who have experienced this disease, and those whose risk is determined by analysis of genetic or biochemical markers. Genetic markers of risk toward PD include mutations in the alpha-synuclein or Parkin, UCHLI, and CYP2D6 genes; particularly mutations at positions 30 and 53 of the alpha-synuclein gene. Individuals presently suffering from Parkinson's disease can be recognized from its clinical manifestations including resting tremor, muscular rigidity, bradykinesia and postural instability.

[0108] In asymptomatic patients, treatment can begin at any age (*e.g.*, 10, 20, 30). Usually, however, it is not necessary to begin treatment until a patient reaches 40, 50, 60 or 70. Treatment typically entails multiple dosages over a period of time. Treatment can be monitored by assaying antibody, or activated T-cell or B-cell responses to a therapeutic agent (*e.g.*, a truncated form of alpha-synuclein peptide) over time. If the response falls, a booster dosage is indicated.

[0109] Antibodies can be used for treating or effecting prophylaxis of Lewy Body disease in patients by administration under conditions that generate a beneficial therapeutic response in a patient (*e.g.*, reduction of neuritic and/or axonal alpha synuclein aggregates, reduction of neuritic dystrophy, improving cognitive function, and/or reversing, treating or preventing cognitive decline) in the patient. In some methods, the areas of neuritic dystrophy in the neuropil of neocortex and/or basal ganglia can be reduced by on average at least 10%, 20%, 30%, or 40% in treated patients compared with a control population. .

[0110] Cognitive impairment, progressive decline in cognitive function, changes in brain morphology, and changes in cerebrovascular function are commonly observed in patients suffering from or at risk of Lewy Body disease. Administration of the present antibodies can inhibit or delay decline of cognitive function in such patients.

[0111] The invention also provides methods of preserving or increasing synaptic density and/or dendritic density. An index of changes in synaptic or dendritic density can be measured by markers of synapse formation (synaptophysin) and/or dendrites (MAP2). In some methods, the synaptic or dendritic density can be restored to the level of synaptic or dendritic density in a healthy subject. In some methods, the mean level of synaptic or dendritic density in treated patients can be elevated by 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% or more as compared to a population of untreated control patients.

VII. Pharmaceutical Compositions and Methods of Treatment

[0112] In prophylactic applications, an antibody or agent for inducing an antibody or a pharmaceutical composition the same is administered to a patient susceptible to, or otherwise at risk of a disease in a regime (dose, frequency and route of administration) effective to reduce the risk, lessen the severity, or delay the onset of at least one sign or symptom of the disease. In some prophylactic applications, the regime is effective to inhibit or delay accumulation of alpha synuclein and truncated fragments in the brain, and/or inhibit or delay its toxic effects and/or inhibit or delay development of behavioral deficits. In therapeutic applications, an antibody or agent to induce an antibody is administered to a patient suspected of, or already suffering from a Lewy body disease in a regime (dose, frequency and route of administration) effective to ameliorate or at least inhibit further deterioration of at least one sign or symptom of the disease. In some therapeutic applications, the regime is effective to reduce or at least inhibit further increase of levels of alpha synuclein and truncated fragments, associated toxicities and/or behavioral deficits.

[0113] A regime is considered therapeutically or prophylactically effective if an individual treated patient achieves an outcome more favorable than the mean outcome in a control population of comparable patients not treated by methods of the invention, or if a more favorable outcome is demonstrated in treated patients versus

control patients in a controlled clinical trial (e.g., a phase II, phase II/III or phase III trial) at the $p < 0.05$ or 0.01 or even 0.001 level .

[0114] Effective doses vary depending upon many different factors, including means of administration, target site, physiological state of the patient including type of Lewy body disease, whether the patient is an ApoE carrier, whether the patient is human or an animal, other medications administered, and whether treatment is prophylactic or therapeutic.

[0115] An exemplary dosage range for antibodies is from about 0.01 to 5 mg/kg, and more usually 0.1 to 3 mg/kg or 0.15-2 mg/kg or 0.15-1.5 mg/kg, of patient body weight. Antibody can be administered such doses daily, on alternative days, weekly, fortnightly, monthly, quarterly, or according to any other schedule determined by empirical analysis. An exemplary treatment entails administration in multiple dosages over a prolonged period, for example, of at least six months. Additional exemplary treatment regimes entail administration once per every two weeks or once a month or once every 3 to 6 months.

[0116] Antibodies can be administered via a peripheral route (i.e., one in which an administered or induced antibody crosses the blood brain barrier to reach an intended site in the brain. Routes of administration include topical, intravenous, oral, subcutaneous, intraarterial, intracranial, intrathecal, intraperitoneal, intranasal or intramuscular. Some routes for administration of antibodies are intravenous and subcutaneous. This type of injection is most typically performed in the arm or leg muscles. In some methods, agents are injected directly into a particular tissue where deposits have accumulated, for example intracranial injection.

[0117] Pharmaceutical compositions for parenteral administration are can be sterile and substantially isotonic and manufactured under GMP conditions. Pharmaceutical compositions can be provided in unit dosage form (i.e., the dosage for a single administration). Pharmaceutical compositions can be formulated using one or more physiologically acceptable carriers, diluents, excipients or auxiliaries. The formulation depends on the route of administration chosen. For injection, antibodies can be formulated in aqueous solutions, preferably in physiologically compatible buffers such as Hank's solution, Ringer's solution, or physiological saline or acetate buffer (to reduce discomfort at the site of injection). The solution can contain formulatory agents such as suspending, stabilizing and/or dispersing agents.

Alternatively antibodies can be in lyophilized form for constitution with a suitable vehicle, e.g., sterile pyrogen-free water, before use.

[0118] The present regimes can be administered in combination with another agent effective in treatment or prophylaxis of the disease being treated. For example, in the case of Parkinson's disease, immunotherapy against alpha synuclein WO/2008/103472, Levodopa, dopamine agonists, COMT inhibitors, MAO-B inhibitors, Amantadine, or anticholinergic agents can be used in combination with the present regimes.

VIII. Other Applications

[0119] The antibodies described above can be used for detecting alpha-synuclein in the context of clinical diagnosis or treatment or in research. The antibodies can also be sold as research reagents for laboratory research in detecting cells bearing alpha-synuclein and their response to various stimuli. In such uses, monoclonal antibodies can be labeled with fluorescent molecules, spin-labeled molecules, enzymes or radioisotopes, and can be provided in the form of kit with all the necessary reagents to perform the assay for alpha-synuclein. The antibodies can also be used to purify alpha-synuclein, e.g., by affinity chromatography.

[0120] The antibodies can be used for detecting LBs in a patient. Such methods are useful to diagnose or confirm diagnosis of PD, or other disease associated with the presence of LBs in the brain, or susceptibility thereto. For example, the methods can be used on a patient presenting with symptoms of dementia. If the patient has LBs, then the patient is likely suffering from a Lewy body disease, such as Parkinson's disease. The methods can also be used on asymptomatic patients. Presence of Lewy bodies or other abnormal deposits of alpha-synuclein indicates susceptibility to future symptomatic disease. The methods are also useful for monitoring disease progression and/or response to treatment in patients who have been previously diagnosed with a Lewy body disease.

[0121] The methods can be performed by administering an antibody and then detecting the antibody after it has bound. If desired, the clearing response can be avoided by using an antibody fragment lacking a full-length constant region, such as a

Fab. In some methods, the same antibody can serve as both a treatment and diagnostic reagent.

[0122] For diagnosis (e.g., *in vivo* imaging), the antibodies can be administered by intravenous injection into the body of the patient, or directly into the brain by intracranial injection or by drilling a hole through the skull. The dosage of reagent should be within the same ranges as for treatment methods. Typically, the antibody is labeled, although in some methods, the antibody is unlabelled and a secondary labeling agent is used to bind to the antibody. The choice of label depends on the means of detection. For example, a fluorescent label is suitable for optical detection. Use of paramagnetic labels is suitable for tomographic detection without surgical intervention. Radioactive labels can also be detected using PET or SPECT.

[0123] Diagnosis is performed by comparing the number, size and/or intensity of labeled loci to corresponding base line values. The base line values can represent the mean levels in a population of undiseased individuals. Base line values can also represent previous levels determined in the same patient. For example, base line values can be determined in a patient before beginning treatment, and measured values thereafter compared with the base line values. A decrease in values relative to base line signals a positive response to treatment.

[0124] The antibodies can be used to generate anti-idiotypic antibodies. (see, e.g., Greenspan & Bona, FASEB J. 7(5) :437-444, 1989; and Nissinoff, J. Immunol. 147:2429-2438, 1991). Such anti-idiotypic antibodies can be utilized in pharmacokinetics, pharmacodynamics, biodistribution studies as well as in studies of clinical human-anti-human antibody (HAHA) responses in individuals treated with the antibodies. For example, anti-idiotypic antibodies bind specifically the variable region of humanized 9E4 antibodies and therefore can be used to detect humanized 9E4 antibodies in pharmacokinetic studies and help to quantify human-anti-human antibody (HAHA) responses in treated individuals.

[0125] All patent filings, website, other publications, accession numbers and the like cited above or below are incorporated by reference in their entirety for all purposes to the same extent as if each individual item were specifically and individually indicated to be so incorporated by reference. If different versions of a sequence are associated with an accession number at different times, the version

associated with the accession number at the effective filing date of this application is meant. The effective filing date means the earlier of the actual filing date or filing date of a priority application referring to the accession number if applicable.

Likewise if different versions of a publication, website or the like are published at different times, the version most recently published at the effective filing date of the application is meant unless otherwise indicated. Any feature, step, element, embodiment, or aspect of the invention can be used in combination with any other unless specifically indicated otherwise. Although the present invention has been described in some detail by way of illustration and example for purposes of clarity and understanding, it will be apparent that certain changes and modifications may be practiced within the scope of the appended claims.

EXAMPLES

EXAMPLE I. Design of humanized 9E4 antibodies

[0126] The starting point or donor antibody for humanization is the mouse antibody 9E4 produced by the hybridoma having ATCC Accession No. PTA-8221 and described in U.S. Patent Application No. 11/710,248 (publication number US2009/0208487). The variable kappa (V_K) of 9E4 belongs to mouse Kabat subgroup 1 which corresponds to human Kabat subgroup 1. The variable heavy (V_H) of 9E4 belongs to mouse Kabat subgroup 3d which corresponds to human Kabat subgroup 3 (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition. NIH Publication No. 91-3242, 1991). Kabat numbering is used throughout in this Example.

[0127] The 17-residue CDR-L1 belongs to canonical class 3, the 7-residue CDR-L2 belongs to class 1, and the 9-residue CDR-L3 belongs to class 1 in V_K (Martin & Thornton, J Mol Biol. 263:800-15, 1996). The 5-residue CDR-H1 belongs to class 1, and the 17-residue CDR-H2 belongs to class 2 (Martin & Thornton, J Mol Biol. 263:800-15, 1996). CDR-H3 has no canonical classes, but the 7 residue loop probably has a kinked base according to the rules of Shirai et al. (FEBS Lett. 455:188-97, 1999).

[0128] A search was made over the protein sequences in the PDB database (Deshpande et al., *Nucleic Acids Res.* 33: D233-7, 2005) to find structures which would provide a rough structural model of 9E4. The crystal structure of dimeric antibody X836 (pdb code 3MBX) (Teplyakov et al, *Mol Immunol.*, 47(14):2422-6, 2010) was chosen for the V κ structure since it had good resolution (1.6Å) and overall sequence similarity to 9E4 V κ , retaining the same canonical structures for the loops. 1H3P (Pizarro et al., *FEBS Lett.* 509:463-8, 2001) was used for the V μ structure. It had good overall sequence similarity and reasonable resolution (2.6Å), but also had the same length CDR-H3 with a kinked base. In addition, CDRs-H1 and H2 had the same canonical structures as 9E4 V μ . DeepView/Swiss-PdvViewer 3.7 (SP5) (Guex and Peitsch, *Electrophoresis* 18: 2714-2723, 1997) was used structure modeling.

[0129] A search of the non-redundant protein sequence database from NCBI allowed selection of suitable human frameworks into which to graft the murine CDRs. For V κ , a human kappa light chain with NCBI accession code AAY33350 (GI:63102889) (Kramer et al., *Eur J Immunol.* 35:2131-45, 2005) was chosen. It has the same canonical classes for CDR-L2 and L3 as 9E4, and belongs to human germline IGKV1D-39 or IGKV1-39 (clone name O2 or O12) according to IMGT convention. It is a member of Kabat human kappa subgroup 1. For V μ , human Ig heavy chain with NCBI accession code AAC50998 (GI:1791009) (Glas et al., *Clin Exp Immunol.* 107:372-80, 1997) was chosen, again with the same canonical classes as 9E4 and belonging to human germline IGHV3-7'01 or IGHV3-7'02 (clones name V3-7 or VH3-11). It is a member of Kabat human heavy subgroup 3.

[0130] The following positions differing between the human acceptor and mouse donor variable region frameworks were identified as being candidates for backmutation. H73 is on the edge of the antigen binding site and interacts with CDR-H2. H93 is an interface residue that lies beneath the CDR-H1 and H3 loops. L36 is a V κ /V μ interface residue. L83 is in close proximity to the constant domain. In 9E4, L83 is a leucine, whereas in human framework, L83 is a larger amino acid phenylalanine.

[0131] Three humanized heavy chains and three humanized light chains are made incorporating back mutations at different permutations of these positions (Figs. 1A, B, sequence alignment, and Tables 2-3).

Table 2 V_H Backmutations

V _H variant	V _H exon acceptor sequence	donor framework residues
Hu9E4VHv1	NCBI accession code AAC50998	H73, H93
Hu9E4VHv2	NCBI accession code AAC50998	H93
Hu9E4VHv3	NCBI accession code AAC50998	H73

Table 3 V_L Backmutations

V _L variant	V _L exon acceptor sequence	donor framework residues
Hu9E4VLv1	NCBI accession code AAY33350	L36
Hu9E4VLv2	NCBI accession code AAY33350	None
Hu9E4VLv3	NCBI accession code AAY33350	L36, L83

[0132] >9E4Vκ Version1

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSIQTLLYSSNQKNYLAWFQQKPGKAPKLL
IYWASIRKSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYSYPLTFGGG
TKLEIK (SEQ ID NO: 3)

[0133] >9E4Vκ Version2

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSIQTLLYSSNQKNYLAWYQQKPGKAPKLL
IYWASIRKSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYSYPLTFGGG
TKLEIK (SEQ ID NO: 4)

[0134] >9E4Vκ Version3

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSIQTLLYSSNQKNYLAWFQQKPGKAPKLL
 IYWASIRKSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDLATYYCQQYYSYPLTFGGG
 TKLEIK (SEQ ID NO: 5)

[0135] >9E4vh Version1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASIS
 SGGGSTYYPDNVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCSRGGAGID
 YWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 8)

[0136] >9E4vh Version2

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASIS
 SGGGSTYYPDNVKGRFTISRDNDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCSRGGAGID
 YWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 9)

[0137] >9E4vh Version3

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASIS
 SGGGSTYYPDNVKGRFTISRDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGAGI
 DYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 10)

[0138] Kabat numbering for AAY33350 light chain and AAC50998 heavy chain
 are listed below:

[0139] Kabat numbering for AAY33350 light chain:

L1 D	L2 I	L3 Q	L4 M	L5 T	L6 Q	L7 S	L8 P	L9 S
L10 S	L11 L	L12 S	L13 A	L14 S	L15 V	L16 G	L17 D	L18 R
L19 V	L20 T	L21 I	L22 T	L23 C	L24 R	L25 A	L26 S	L27 Q
L28 S	L29 I	L30 S	L31 S	L32 Y	L33 L	L34 N	L35 W	L36 Y
L37 Q	L38 Q	L39 K	L40 P	L41 G	L42 K	L43 A	L44 P	L45 K
L46 L	L47 L	L48 I	L49 Y	L50 A	L51 A	L52 S	L53 S	L54 L
L55 Q	L56 S	L57 G	L58 V	L59 P	L60 S	L61 R	L62 F	L63 S
L64 G	L65 S	L66 G	L67 S	L68 G	L69 T	L70 D	L71 F	L72 T
L73 L	L74 T	L75 I	L76 S	L77 S	L78 L	L79 Q	L80 P	L81 E
L82 D	L83 F	L84 A	L85 T	L86 Y	L87 Y	L88 C	L89 Q	L90 Q
L91 S	L92 Y	L93 S	L94 T	L95 P	L96 L	L97 T	L98 F	L99 G
L100 G	L101 G	L102 T	L103 K	L104 L	L105 E	L106 I	L107 K	L108 -
L109 -	L110 -	L111 -						

[0140] Kabat numbering for AAC50998 heavy chain:

H1 E	H2 V	H3 Q	H4 L	H5 V	H6 E	H7 S	H8 G	H9 G
H10 G	H11 L	H12 V	H13 Q	H14 P	H15 G	H16 G	H17 S	H18 L

H19 R H20 L H21 S H22 C H23 A H24 A H25 S H26 G H27 F
H28 T H29 F H30 S H31 S H32 Y H33 W H34 M H35 S H36 W
H37 V H38 R H39 Q H40 A H41 P H42 G H43 K H44 G H45 L
H46 E H47 W H48 V H49 A H50 N H51 I H52 K H52A Q H53 D
H54 G H55 S H56 E H57 K H58 Y H59 Y H60 V H61 D H62 S
H63 V H64 K H65 G H66 R H67 F H68 T H69 I H70 S H71 R
H72 D H73 N H74 A H75 K H76 N H77 S H78 L H79 Y H80 L
H81 Q H82 M H82A N H82B S H82C L H83 R H84 A H85 E H86 D
H87 T H88 A H89 V H90 Y H91 Y H92 C H93 A H94 R H95 G
H96 S H97 S H98 D H99 M H100 - H101 D H102 Y H103 W H104 G
H105 Q H106 G H107 T H108 L H109 V H110 T H111 V H112 S H113 S
H114 -

[0141] Kabat number of other heavy and light chain variable regions can be determined by alignment with corresponding residues assigned the same number or using commercially available software.

Table 4. Kabat numbering of preferred framework residues for backmutation in humanized 9E4 antibodies

	AAY3335 0 light chain	AAC50998 heavy chain	Mouse 9E4	Humanized 9E4 v1	Humanized 9E4 v2	Humanized 9E4 v3	Humanized 9E4 v4 (heavy chain)
L36	Y	-	F	F	Y	F	-
L83	F	-	L	F	F	L	-
H73	-	N	D	D	N	D	N
H93	-	A	S	S	S	A	A

EXAMPLE II. Passive Immunization with α -synuclein antibodies

[0142] The goal of this experiment is to determine effectiveness of α -synuclein antibodies in *in vitro* and *in vivo* studies as well as behavioral assays. We used α -synuclein transgenic (Line 61), α -synuclein knockout and wildtype female mice, 3-4 months old at initiation and n=14/group. Antibodies tested included 9E4 (IgG1, epitope: amino acids 118-126 of alpha synuclein), 5C1 (IgG1, epitope: amino acids 118-126 of alpha synuclein, c-linker), 5D12, IgG2 (SN118-126), 1H7, IgG1 (SN 91-99) and an IgG1 control antibody 27-1. Mice received a dosage of 10 mg/kg over a 5 month period, for a total of 21 injections. In addition, the animals were injected with lentivirus (LV) expressing human α -synuclein (wt) by unilateral introduction of human α -synuclein (wt) into the hippocampus.

[0143] Readout antibodies include those from Chemicon (epitope: full-length alpha synuclein), Millipore (epitope: full-length alpha synuclein), and Neotope, ELADW 105 (epitope: amino acids 121-124 of full-length alpha synuclein).

[0144] **Endpoints:** Antibody titers were measured during the in life phase. Behavioral assays include Morris Water Maze test (MWW) and horizontal beam test. The round beam test is a test of motor balance, coordination and gait conducted using two beams of varying diameter. Beam A is the larger diameter (easier, considered the training beam) and Beam D is the smaller diameter (more difficult, considered the testing beam). Data is presented as “errors” (number of slips/10cm) and “speed” (time taken to travel 10cm/sec). Water maze performance was carried out at weeks 10 and termination. The following neuropathology measurements were taken: alpha synuclein aggregation, synaptophysin, and MAP2. The following biochemistry measurements were taken: alpha synuclein, PSD95, synaptophysin. Selected multilabeling and confocal labeling were carried out using synaptic, neuronal and glial markers.

[0145] The results showed that all antibodies, except 5D12, produced significant reduction in α -syn accumulation and preservation of synaptic and dendritic densities, as well as positive outcomes in MWM performance. The 9E4 antibody is effective in *in vitro* and *in vivo* studies as well as behavioral assays. Readouts indicate antibody may reduce neuritic/axonal alpha synuclein aggregates.

[0146] **Behavioral Results:** The 9E4 antibody improved water maze performance in α -synuclein transgenic mice (Figures 3-4). In contrast, the 5D12 antibody did not improve water maze performance in α -synuclein transgenic mice (Figure 4). The 9E4 and 1H7 antibodies improved performance on the beam test as measured both by speed and errors, whereas the 5D12 and 5C1 antibodies did not (Figure 4).

[0147] **Neuropathology Results:** The 9E4, 1H7 and 5C1 antibodies reduced ELADW-105 positive neuritic dystrophy, whereas the 5D12 antibody did not. In alpha synuclein transgenic mice, the 9E4 antibody reduced the area of neuropil by 43% in neocortex and by 40% in basal ganglia as compared to control. The 9E4 antibody also preserved synaptophysin and MAP2 in neocortex and basal ganglia.

EXAMPLE III. Immunoprecipitation

[0148] Immunoprecipitation was performed to test the binding efficacy of various versions of humanized 9E4 antibodies towards its antigen taken from diseased tissue

(Figure 5). 150 µg of Tris-soluble brain lysates from Dementia with Lewy Body brains were immunoprecipitated with 5 µg of each indicated antibody using Protein G magnetic beads (New England Biolabs). Samples were washed 5 times with PBS/350 mM NaCl/0.5% NP-40, boiled, and the resulting samples resolved by SDS-PAGE. After blotting, membranes were incubated with Ab5038 (Millipore), a polyclonal antibody that detects total synuclein. The experiment was repeated three times to confirm accuracy.

EXAMPLE IV. Western blot

[0149] Western blotting of recombinant human synuclein with mouse, chimeric and humanized 9E4 antibodies is shown in Figure 6. Antibody dilution curves were apparently similar for mouse, chimeric and humanized 9E4 antibodies. All antibodies detected a band at 28 kDa and a second band at 49 kDa. The 49 kDa band is likely a multimer of synuclein.

[0150] Indicated amounts of recombinant, bacterially-expressed human wild-type synuclein were resolved by SDS-PAGE, and blotted with identical amounts of the indicated form of 9E4. After washing, species-appropriate goat polyclonal antibodies conjugated to the IRDye-800 fluorophor were applied, and the blot was washed. Exposure times were identical for the different antibodies.

DEPOSIT

[0151] The following hybridoma has been deposited under the provisions of the Budapest Treaty with the American Type Culture Collection (ATCC, P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108) on the date indicated. This deposit will be maintained at an authorized depository and replaced in the event of mutation, nonviability or destruction for a period of at least five years after the most recent request for release of a sample was received by the depository, for a period of at least thirty years after the date of the deposit, or during the enforceable life of the related patent, whichever period is longest. All restrictions on the availability to the public of these cell lines will be irrevocably removed upon the issuance of a patent from the application.

Monoclonal antibody	Cell Line	Epitope/Specificity	Isotype	Date of Deposit	Accession No.
9E4	JH17.9E4.3.37.1.14.2	alpha-synuclein residues 118-126	IgG1 κ	Feb. 26, 2007	PTA- 8221

WHAT IS CLAIMED IS:

1. An antibody comprising a mature heavy chain variable region comprising the three Kabat CDRs of SEQ ID NO:11, and being at least 90% identical to SEQ ID NO:11, and a light chain comprising the three Kabat CDRs of SEQ ID NO:4, and being at least 90% identical to SEQ ID NO:4.
2. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:10 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:5.
3. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:10 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:3.
4. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:8 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:3.
5. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:8 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:4.
6. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:8 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:5.
7. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:9 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:3.
8. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:9 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:4.

9. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:9 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:5.
10. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:10 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:4.
11. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:11 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:3.
12. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:11 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:4.
13. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:11 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:5.
14. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region is at least 95% identical to SEQ ID NO:11 and mature light chain variable region is at least 95% identical to SEQ ID NO:4.
15. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence at least 98% identical to SEQ ID NO:11 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence at least 95% identical to SEQ ID NO:4.
16. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence at least 99% identical to SEQ ID NO:11 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence at least 95% identical to SEQ ID NO:4.

17. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has the amino acid sequence of SEQ ID NO:11 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence at least 95% identical to SEQ ID NO:4.
18. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence at least 95% identical to SEQ ID NO:11 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence at least 98% identical to SEQ ID NO:4.
19. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence at least 95% identical to SEQ ID NO:11 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence at least 99% identical to SEQ ID NO:4.
20. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence at least 95% identical to SEQ ID NO:11 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence designated SEQ ID NO:4.
21. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence at least 98% identical to SEQ ID NO:11 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence at least 98% identical to SEQ ID NO:4.
22. The antibody of claim 1, wherein the mature heavy chain variable region has an amino acid sequence at least 99% identical to SEQ ID NO:11 and the mature light chain variable region has an amino acid sequence at least 99% identical to SEQ ID NO:4.
23. The antibody of claim 1, provided that position L36 (Kabat numbering) is occupied by F.
24. The antibody of claim 1, provided that position L83 (Kabat numbering) is occupied by L.

25. The antibody of claim 1, provided that position H73 (Kabat numbering) is occupied by D.
26. The antibody of claim 1, provided that position H93 (Kabat numbering) is occupied by S.
27. The antibody of claim 1, provided that position H93 (Kabat numbering) is occupied by A.
28. The antibody of claim 1, wherein the amino acid sequence of the mature heavy chain variable region is SEQ ID NO:11 and the amino acid sequence of the mature light chain variable region is SEQ ID NO:4 except provided that position L36 (Kabat numbering) can be occupied by Y or F, position L83 (Kabat numbering) can be occupied by F or L, position H73 (Kabat numbering) can be occupied by N or D and position H93 (Kabat numbering) can be occupied by A or S.
29. A antibody comprising a humanized heavy chain comprising the three Kabat CDRs of SEQ ID NO:11 and a humanized light chain comprising the three CDRs of SEQ ID NO:4 provided that position L36 (Kabat numbering) is occupied by F and/or position L83 (Kabat numbering) is occupied by L and/or position H73 (Kabat numbering) is occupied by D, and/or position H93 (Kabat numbering) is occupied by S.
30. The antibody of claim 29, wherein position L36 (Kabat numbering) is occupied by F and position H73 (Kabat numbering) is occupied by D, and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S.
31. The antibody of claim 29, wherein position L36 (Kabat numbering) is occupied by F and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S.
32. The antibody of claim 29, wherein position L36 (Kabat numbering) is occupied by F and position H73 (Kabat numbering) is occupied by D.

33. The antibody of claim 29, wherein position H73 (Kabat numbering) is occupied by D and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S.

34. The antibody of claim 29, wherein position H93 (Kabat numbering) is occupied by S.

35. The antibody of claim 29, wherein position H73 (Kabat numbering) is occupied by D.

36. The antibody of claim 29, wherein position L36 (Kabat numbering) is occupied by F and position L83 (Kabat numbering) is occupied by L and position H73 (Kabat numbering) is occupied by D, and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S.

37. The antibody of claim 29, wherein position L36 (Kabat numbering) is occupied by F and position L83 (Kabat numbering) is occupied by L and position H93 (Kabat numbering) is occupied by S.

38. The antibody of claim 29, wherein position L36 (Kabat numbering) is occupied by F and position L83 (Kabat numbering) is occupied by L and position H73 (Kabat numbering) is occupied by D.

39. The antibody of any preceding claim, wherein the mature heavy chain variable region is fused to a heavy chain constant region and the mature light chain constant region is fused to a light chain constant region.

40. The antibody of claim 39, wherein the heavy chain constant region has the amino acid sequence designated SEQ ID NO:14 provided the C-terminal lysine residue may be omitted.

41. The antibody of claim 39, wherein the light chain constant region has the amino acid sequence designated SEQ ID NO:13.

42. The antibody of claim 39, wherein the light chain has the constant region designated SEQ ID NO:28.

43. The antibody of any preceding claim, wherein the heavy chain constant region is a mutant form of natural human constant region which has reduced binding to an Fcγ receptor relative to the natural human constant region.
44. The antibody of any preceding claim, wherein the heavy chain constant region is of human IgG1 isotype.
45. A nucleic acid encoding a mature heavy chain variable region and/or a mature light chain variable region as defined by any preceding claim.
46. The nucleic acid of claim 45 having a sequence comprising any one of SEQ ID NO:15, 17, 18, 19, and 20.
47. A host cell comprising a vector comprising the nucleic acid of claim 45 or 46.
48. A method of treating a patient having or at risk of a synucleinopathy, comprising administering to the patient an effective regime of an antibody as defined by any of claims 1-40.
49. The method of claim 48, wherein the patient has REM sleep behavior disorder (RBD).
50. A method of detecting Lewy bodies in a patient having or at risk of a Lewy body disease, comprising administering to the patient an effective amount of an antibody as defined by any of claims 1-44, wherein the antibody binds to Lewy bodies; and detecting bound antibody in the patient.
51. The method of claim 50, wherein the antibody is labeled.
52. A method of reducing Lewy body formation in a patient having or at risk of a Lewy body disease, comprising administering to the patient an effective amount of an antibody as defined by any of claims 1-44.

53. A method of inhibiting synuclein aggregation or reducing Lewy bodies or synuclein aggregates in a patient having or at risk of a Lewy body disease, comprising administering to the patient an effective amount of an antibody as defined by any of claims 1-44.
54. The method of any of claims 48-53, wherein the disease is Parkinson's disease.
55. The method of any of claims 48-53, wherein the disease is multiple system atrophy (MSA) or Dementia with Lewy Bodies (DLB).
56. A pharmaceutical composition comprising an antibody as defined by any of claims 1-44.
57. A method of producing an antibody, comprising culturing cells transformed with nucleic acids encoding the heavy and light chains of the antibody, so that the cell secrete the antibody; and purifying the antibody from cell culture media; wherein the antibody defined by any of claims 1-44.
58. A method of producing a cell line producing a antibody, comprising introducing a vector encoding heavy and light chains of an antibody and a selectable marker into cells; propagating the cells under conditions to select for cells having increased copy number of the vector; isolating single cells from the selected cell; and banking cells cloned from a single cell selected based on yield of antibody; wherein the antibody is an antibody as defined by any of claims 1-44.
59. The method of claim 58, further comprising propagating the cells under selective conditions and screening for cell lines naturally expressing and secreting at least 100 mg/L/10⁶ cells/24 h.
60. The method of any of claims 48, 52-53, wherein decline of cognitive function in the patient is inhibited.
61. The method of any of claims 48, 52-53, wherein neuritic and/or axonal alpha synuclein aggregates are reduced.

62. The method of any of claims 48, 52-53, wherein neuritic dystrophy in the patient is reduced.

63. The method of any of claims 48, 52-53, wherein synaptic and/or dendritic density is preserved.

64. The method of any of claims 48, 52-53, wherein the method preserves synaptophysin and/or MAP2 in the patient.

1/8

Fig. 1

9E4 VH alignment

Kabat																					
Numbering	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
m9E4VH	E	V	K	L	V	E	S	G	G	G	L	V	K	P	G	A	S	L	K	L	
1791009	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L	
Hu9E4VHv1	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L	
Hu9E4VHv2	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L	
Hu9E4VHv3	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L	
Hu9E4VHv4	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L	

Kabat																				
Numbering	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
m9E4VH	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	<u>N</u>	<u>Y</u>	<u>G</u>	<u>M</u>	<u>S</u>	W	V	R	Q	T
1791009	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	<u>S</u>	<u>Y</u>	<u>W</u>	<u>M</u>	<u>S</u>	W	V	R	Q	A
Hu9E4VHv1	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	<u>N</u>	<u>Y</u>	<u>G</u>	<u>M</u>	<u>S</u>	W	V	R	Q	A
Hu9E4VHv2	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	<u>N</u>	<u>Y</u>	<u>G</u>	<u>M</u>	<u>S</u>	W	V	R	Q	A
Hu9E4VHv3	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	<u>N</u>	<u>Y</u>	<u>G</u>	<u>M</u>	<u>S</u>	W	V	R	Q	A
Hu9E4VHv4	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	<u>N</u>	<u>Y</u>	<u>G</u>	<u>M</u>	<u>S</u>	W	V	R	Q	A

Kabat																				
Numbering	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	52A	53	54	55	56	57	58	59
m9E4VH	S	D	K	R	L	E	W	V	A	<u>S</u>	<u>I</u>	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>S</u>	<u>T</u>	<u>Y</u>	<u>Y</u>
1791009	P	G	K	G	L	E	W	V	A	<u>N</u>	<u>I</u>	<u>K</u>	<u>Q</u>	<u>D</u>	<u>G</u>	<u>S</u>	<u>E</u>	<u>K</u>	<u>Y</u>	<u>Y</u>
Hu9E4VHv1	P	G	K	G	L	E	W	V	A	<u>S</u>	<u>I</u>	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>S</u>	<u>T</u>	<u>Y</u>	<u>Y</u>
Hu9E4VHv2	P	G	K	G	L	E	W	V	A	<u>S</u>	<u>I</u>	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>S</u>	<u>T</u>	<u>Y</u>	<u>Y</u>
Hu9E4VHv3	P	G	K	G	L	E	W	V	A	<u>S</u>	<u>I</u>	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>S</u>	<u>T</u>	<u>Y</u>	<u>Y</u>
Hu9E4VHv4	P	G	K	G	L	E	W	V	A	<u>S</u>	<u>I</u>	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>S</u>	<u>T</u>	<u>Y</u>	<u>Y</u>

2/8

Fig. 1 (cont.)

9E4 VH alignment

Kabat																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Fig. 2

9E4 VL alignment

Kabat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Numbering	D	I	V	M	S	Q	S	P	S	S	L	A	V	S	V	G	E	K	V	
m9E4VL																				
63102889	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T
Hu9E4VLv1	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T
Hu9E4VLv2	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T
Hu9E4VLv3	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T

Kabat		21	22	23	24	25	26	27	27A	27B	27C	27D	27E	27F	28	29	30	31	32	33	34
Numbering																					
m9E4VL	M	S	C	C	K	S	I	Q	T	L	L	Y	S	S	N	Q	K	N	Y	L	A
63102889	I	T	C	C	R	A	S	Q	-	-	-	-	-	-	S	I	S	S	Y	L	N
Hu9E4VLv1	I	T	C	C	K	S	I	Q	T	L	L	Y	S	S	N	Q	K	N	Y	L	A
Hu9E4VLv2	I	T	C	C	K	S	I	Q	T	L	L	Y	S	S	N	Q	K	N	Y	L	A
Hu9E4VLv3	I	T	C	C	K	S	I	Q	T	L	L	Y	S	S	N	Q	K	N	Y	L	A

Kabat	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54
Numbering																				
m9E4VL	W	F	Q	Q	K	P	G	Q	S	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	I	R
63102889	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	A	A	S	S	L
Hu9E4VLv1	W	F	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	I	R
Hu9E4VLv2	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	I	R
Hu9E4VLv3	W	F	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	I	R

Fig. 2 (cont.)

9E4 VL alignment

Kabat		55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74
Numbering		K	S	G	V	P	D	R	F	T	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T
m9E4VL		Q	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T
63102889		K	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T
Hu9E4VLv1		K	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T
Hu9E4VLv2		K	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T
Hu9E4VLv3		K	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T

Kabat		75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94
Numbering	m9E4VL	I	S	S	V	K	A	E	D	L	A	V	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y
	63102889	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	S	Y	S	T
	Hu9E4VLv1	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y
	Hu9E4VLv2	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y
Hu9E4VLv3	I	S	S	L	Q	P	E	D	L	A	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y

Kabat		95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107
Numbering		P	L	T	F	G	A	G	T	K	L	E	L	K
m9E4VL		P	L	T	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K
63102889		P	L	T	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K
Hu9E4VLv1		P	L	T	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K
Hu9E4VLv2		P	L	T	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K
Hu9E4VLv3		P	L	T	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K

Fig. 3

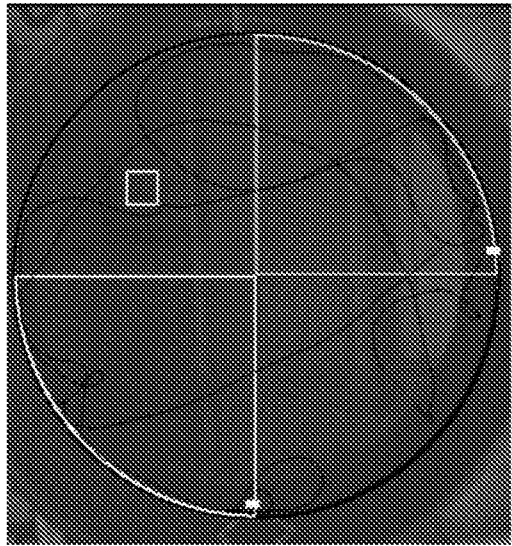
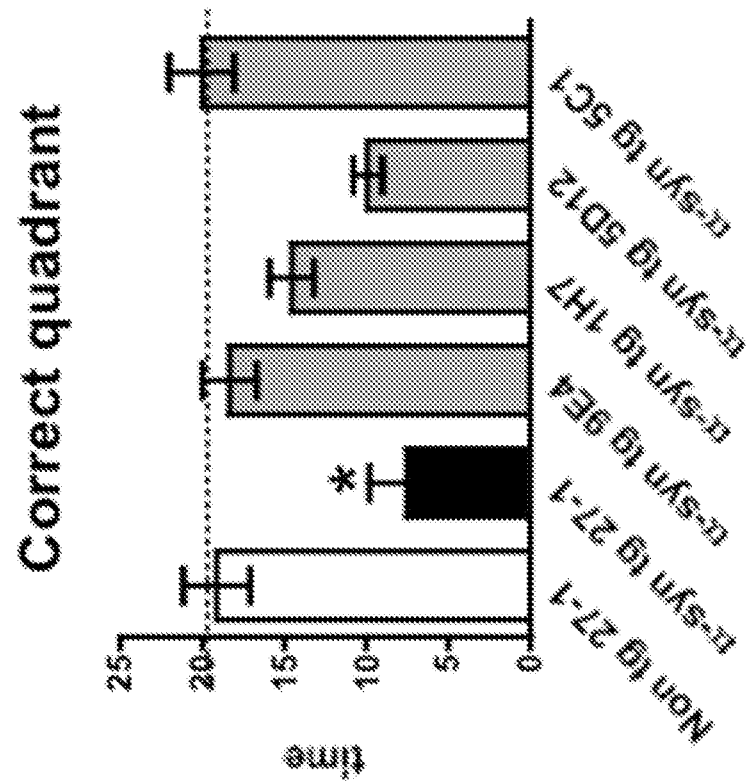


Fig. 4

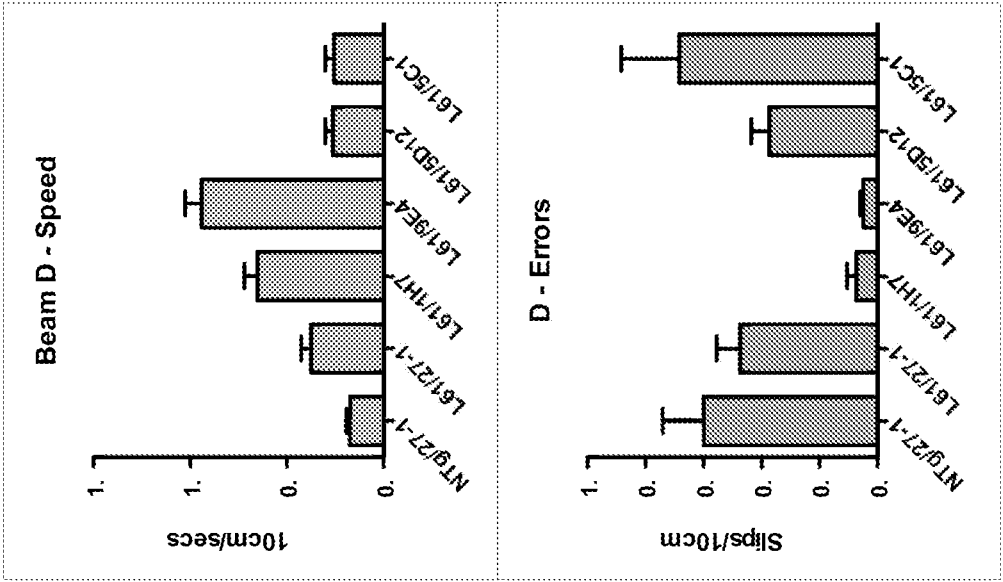
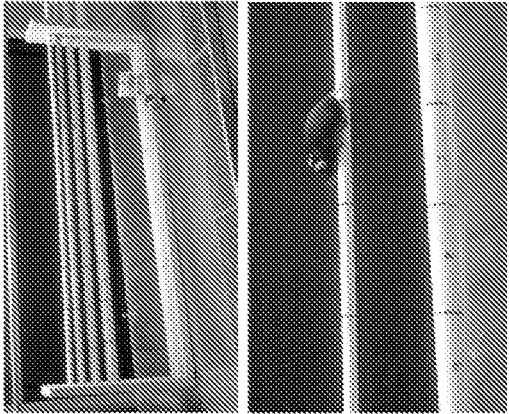


Fig. 5

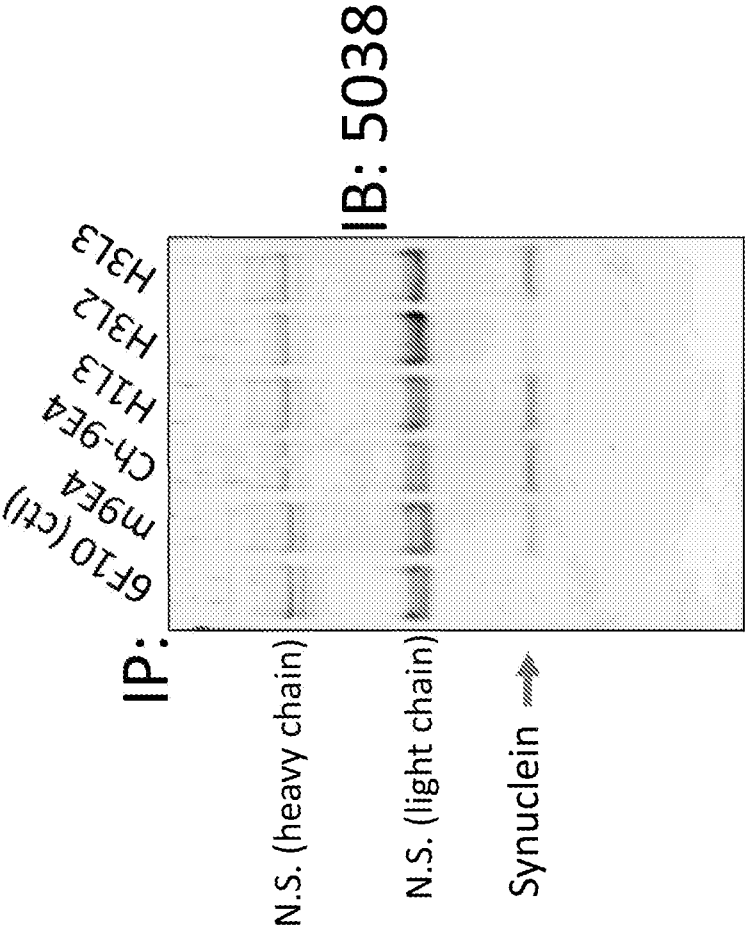
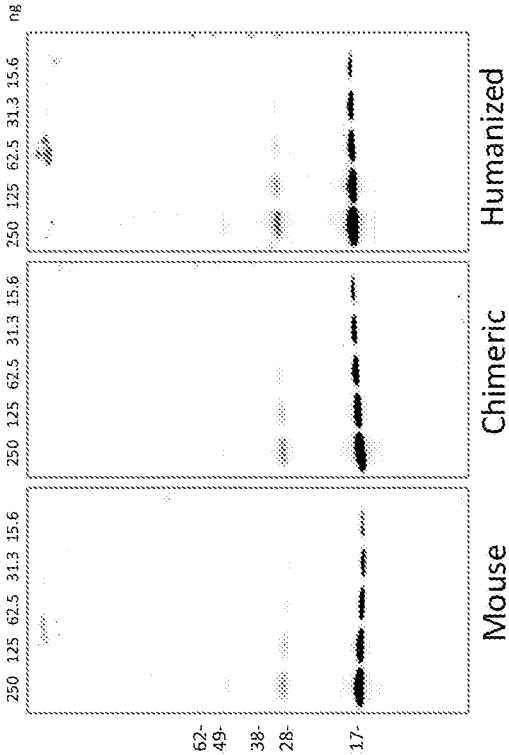


Fig. 6



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/62290

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 39/00; A61K 39/395; C07K 16/00 (2013.01) USPC - 424/133.1, 424/158.1; 530/388.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC																	
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) USPC- 424/133.1, 424/158.1; 530/388.1 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC- 530/387.3, 530/388.25 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PubWEST(PGPB,USPT,USOC,EPAB,JPAB); Google: Antibody, 9E4, humanized, CDR, Heavy chain, Light Chain, Neotope Bioscience Limited, alpha synuclein, NYGMS, SISSGGGSTYYPDNVKG, GGAGIDY, KSSQTLTYSTNQKNYLA, WASIRKS, QQYYSYPLT GenCore 6.3: SEQ ID NO: 2-11, 13, 14																	
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>WO 2008/011348 A2 (PFEIFER, et al.) 24 January 2008 (24.01.2008) Fig 11 and its legend</td> <td>1-42</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2009/0010924 A1 (Wu, et al.) 08 January 2009 (08.01.2009) SEQ ID NO: 28</td> <td>1-42</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2010/0203631 A1 (Chilcote, et al.) 12 August 2010 (12.08.2010) Abstract, para [0008], [0010], [0012], [0013], [0018], [0040], [0082], claims 1-7</td> <td>1-42</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 7,910,333 B2 (Chilcote, et al.) 22 March 2011 (22.03.2011) Abstract, Table 3, claims 2-9</td> <td>1-42</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	A	WO 2008/011348 A2 (PFEIFER, et al.) 24 January 2008 (24.01.2008) Fig 11 and its legend	1-42	A	US 2009/0010924 A1 (Wu, et al.) 08 January 2009 (08.01.2009) SEQ ID NO: 28	1-42	A	US 2010/0203631 A1 (Chilcote, et al.) 12 August 2010 (12.08.2010) Abstract, para [0008], [0010], [0012], [0013], [0018], [0040], [0082], claims 1-7	1-42	A	US 7,910,333 B2 (Chilcote, et al.) 22 March 2011 (22.03.2011) Abstract, Table 3, claims 2-9	1-42
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.															
A	WO 2008/011348 A2 (PFEIFER, et al.) 24 January 2008 (24.01.2008) Fig 11 and its legend	1-42															
A	US 2009/0010924 A1 (Wu, et al.) 08 January 2009 (08.01.2009) SEQ ID NO: 28	1-42															
A	US 2010/0203631 A1 (Chilcote, et al.) 12 August 2010 (12.08.2010) Abstract, para [0008], [0010], [0012], [0013], [0018], [0040], [0082], claims 1-7	1-42															
A	US 7,910,333 B2 (Chilcote, et al.) 22 March 2011 (22.03.2011) Abstract, Table 3, claims 2-9	1-42															
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐																	
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family																	
Date of the actual completion of the international search 17 January 2013 (17.01.2013)		Date of mailing of the international search report 28 JAN 2013															
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774															

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/62290

Box No. I **Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)**

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

a. (means)

☐

on paper

☒

in electronic form

b. (time)

☐

in the international application as filed

☒

together with the international application in electronic form

☐

subsequently to this Authority for the purposes of search

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

GenCore 6.3: SEQ ID NO: 2-11, 13, 14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/62290

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

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

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 43-64
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

ANTICUERPOS HUMANIZADOS QUE RECONOCEN LA ALFA-SINUCLLEINA

REFERENCIA CRUZADA CON LA SOLICITUD RELACIONADA

Esta Solicitud reivindica la prioridad de la
5 Solicitud de Patente Provisional de E.U. No. 61/553,131,
presentada el 28 de octubre de 2011, y la Solicitud de
Patente Provisional de E.U. No. 61/711,208, presentada el 8
de octubre de 2012, cada una de las cuales se incorpora
mediante la referencia en la totalidad para todo propósito.

10

REFERENCIA A UN LISTADO DE SECUENCIAS

El Listado de secuencias escrito en el archivo
424859SEQLIST.txt es de 34 kilobytes y se creó el 24 de
Octubre de 2012. La información contenida en este archivo se
incorpora en la presente mediante la referencia.

15

ANTECEDENTES

Las sinucleinopatías también conocidas como
enfermedades de cuerpos de Lewy (LBDs), se caracterizan por
la degeneración del sistema dopaminérgico, alteraciones
motrices, deterioro cognitivo, y formación de los cuerpos de
20 Lewy (LBs) y/o neuritas de Lewy, (McKeith et al., Neurology
(1996) 47:1113-24). Las sinucleinopatías incluyen la
enfermedad de Parkinson (incluyendo, enfermedad de Parkinson
idiopática), Enfermedad de Cuerpos de Lewy Difusos (DLBD)
también conocida como Demencia con Cuerpos de Lewy (DLB),
25 variante de cuerpos de Lewy de la enfermedad de Alzheimer

(LBV), enfermedad de Parkinson y Alzheimer Combinadas, insuficiencia autonómica pura y atrofia multisistémica (MSA; por ejemplo, Atrofia Olivopontocerebelosa, Degeneración Estriatonigral y Síndrome de Shy-Drager). Varios síntomas y
5 signos no motrices, se consideran ser precursores de sinucleinopatías en la fase prodrómica de las enfermedades (es decir, el período presintomático, subclínico, preclínico, o premotor). Tales signos tempranos incluyen, por ejemplo, trastorno de comportamiento del sueño REM (RBD), pérdida de
10 olfato y estreñimiento (Mahowald *et al.* Neurology (2010) 75:488-489). Las enfermedades de cuerpos de Lewy continúan siendo una causa común de los trastornos del movimiento y el deterioro cognitivo en la población adulta mayor (Galasko *et al.*, Arch. Neurol. (1994) 51:888-95).

15 La alfa-sinucleína es parte de una gran familia de proteínas que incluyen la beta- y gamma-sinucleína y sinoretina. La alfa-sinucleína se expresa en el estado normal asociado con sinapsis y se cree que juega un papel en la plasticidad neural, aprendizaje y memoria. Varios
20 estudios han implicado la alfa-sinucleína con un papel central en la patogénesis PD. La proteína puede agregarse para formar fibrilos insolubles en las condiciones patológicas. Por ejemplo, la sinucleína se acumula en LBs (Spillantini *et al.*, Nature (1997) 388:839-40; Takeda *et al.*,
25 J. Pathol. (1998) 152:367-72; Wakabayashi *et al.*, Neurosci.

Lett. (1997) 239:45-8). Las mutaciones en el gen de alfa-sinucleína se co-segregan con formas de familias raras de parkinsonismo (Kruger *et al.*, Nature Gen. (1998) 18:106-8; Polymeropoulos, *et al.*, Science (1997) 276:2045-7). La
5 sobre-expresión de alfa sinucleína en los ratones transgénicos (Masliah *et al.*, Science (2000) 287:1265-9) y Drosophila (Feany *et al.*, Nature (2000) 404:394-8) imita los diversos aspectos patológicos de la enfermedad de cuerpos de Lewy. Además, se ha sugerido que los oligómeros solubles de
10 sinucleína pueden ser neurotóxicos (Conway KA, *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA (2000) 97:571-576; VollesMJ, Lansbury PT, Jr Biochemistry (2003) 42:7871-7878). La acumulación de la alfa-sinucleína con alteraciones morfológicas y neurológicas similares en especies y modelos de animal tan diversas como
15 seres humanos, ratones, y moscas, sugiere que esta molécula contribuye al desarrollo de la enfermedad de cuerpos de Lewy.

SUMARIO DE LA INVENCION REIVINDICADA

La invención proporciona anticuerpos que comprenden una región variable de cadena pesada humanizada madura que
20 comprende las tres CDRs de Kabat de la SEQ ID NO: 11, y siendo al menos 90% idéntica a la SEQ ID NO: 11, y una cadena ligera humanizada que comprende las tres CDRs de Kabat de la SEQ ID NO: 4, y siendo al menos 90% idéntica a la SEQ ID NO: 4. En algunos anticuerpos, la región variable de cadena
25 pesada madura es al menos 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica

a la SEQ ID NO: 11 y la región variable de cadena ligera
madura es al menos 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la
SEQ ID NO: 4. En algunos anticuerpos la posición L36
(Numeración de Kabat) puede ocuparse por Y o F, la posición
5 L83 (Numeración de Kabat) puede ocuparse por F o L, la
posición H73 (Numeración de Kabat) puede ocuparse por N o D y
la posición H93 (Numeración de Kabat) puede ocuparse por A o
S. En algunos de tales anticuerpos la secuencia de
aminoácidos de la región variable de cadena pesada madura es
10 de otro modo, la de la SEQ ID NO: 11 y la secuencia de
aminoácidos de la región variable de cadena ligera madura es
de otro modo, la de la SEQ ID NO: 4.

En algunos anticuerpos, la región variable de
cadena pesada madura tiene una secuencia de aminoácidos
15 designada SEQ ID NO: 8 y la región variable de cadena ligera
madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID
NO: 3. En algunos anticuerpos, la región variable de cadena
pesada madura tiene una secuencia de aminoácidos designada
SEQ ID NO: 8 y la región variable de cadena ligera madura
20 tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 4.
En algunos anticuerpos, la región variable de cadena pesada
madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID
NO: 8 y la región variable de cadena ligera madura tiene una
secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 5. En algunos
25 anticuerpos, la región variable de cadena pesada madura tiene

una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 9 y la
región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia
de aminoácidos designada SEQ ID NO: 3. En algunos
anticuerpos, la región variable de cadena pesada madura tiene
5 una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 9 y la
región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia
de aminoácidos designada SEQ ID NO: 4. En algunos
anticuerpos, la región variable de cadena pesada madura tiene
una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 9 y la
10 región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia
de aminoácidos designada SEQ ID NO: 5. En algunos
anticuerpos, la región variable de cadena pesada madura tiene
una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 10 y la
región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia
15 de aminoácidos designada SEQ ID NO: 3. En algunos
anticuerpos, la región variable de cadena pesada madura tiene
una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 10 y la
región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia
de aminoácidos designada SEQ ID NO: 4. En algunos
20 anticuerpos, la región variable de cadena pesada madura tiene
una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 10 y la
región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia
de aminoácidos designada SEQ ID NO: 5. En algunos
anticuerpos, la región variable de cadena pesada madura tiene
25 una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 11 y la

región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 3. En algunos anticuerpos, la región variable de cadena pesada madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 11 y la
5 región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 4. En algunos anticuerpos, la región variable de cadena pesada madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 11 y la
región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia
10 de aminoácidos designada SEQ ID NO: 5.

La invención además proporciona un anticuerpo que comprende una cadena pesada humanizada que comprende las tres CDRs de Kabat de la SEQ ID NO: 11 y una cadena ligera humanizada que comprende las tres CDRs de la SEQ ID NO: 4
15 siempre que la posición L36 (Numeración de Kabat) se encuentre ocupada por F o Y y/o la posición L83 (Numeración de Kabat) se encuentre ocupada por L o F y/o la posición H73 (Numeración de Kabat) se encuentre ocupada por D o N, y/o la posición H93 (Numeración de Kabat) se encuentre ocupada por S
20 o A. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F y la posición H73 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D, y la posición H93 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S. En algunos de tales anticuerpos, la posición
25 L36 se encuentra ocupada por F. En algunos de tales

anticuerpos, la posición L83 se encuentra ocupada por L. En algunos de tales anticuerpos la posición H73 se encuentra ocupada por D. En algunos de tales anticuerpos, la posición H93 se encuentra ocupada por A. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 se encuentra ocupada por F y la posición L83 se encuentra ocupada por L. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 se encuentra ocupada por F y la posición H73 se encuentra ocupada por D. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 se encuentra ocupada por F y la posición H93 se encuentra ocupada por A. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 se encuentra ocupada por F, la posición L83 se encuentra ocupada por L y la posición H73 se encuentra ocupada por D. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 se encuentra ocupada por F, la posición L83 se encuentra ocupada por L y la posición H93 se encuentra ocupada por A. En algunos de tales anticuerpos, la posición L 36 se encuentra ocupada por F, la posición L83 se encuentra ocupada por L, la posición H73 se encuentra ocupada por D y la posición H93 se encuentra ocupada por A. En algunos de tales anticuerpos, los residuos en las posiciones L36, L83, H73 y H93 (Numeración de Kabat) se encuentran ocupadas por aminoácidos según se indica en la Tabla 1 ocupada por F y la posición H73 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D, y la posición H93 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por A. En algunos de tales anticuerpos, la posición

L36 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F y la posición H93 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S. En algunos de tales anticuerpos, la posición H73 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D y la
5 posición H93 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S. En algunos de tales anticuerpos, la posición H73 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D y la posición H93 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por A. En algunos de tales anticuerpos, la posición H93
10 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S. En algunos de tales anticuerpos, la posición H73 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por N. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F, la posición L83 (Numeración de Kabat) se encuentra
15 ocupada por L, la posición H73 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D, y la posición H93 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F, la posición L83 (Numeración de
20 Kabat) se encuentra ocupada por L y la posición H93 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S.

En cualquiera de los anticuerpos anteriores, la región variable de cadena pesada madura puede fusionarse a una región constante de cadena pesada y la región constante
25 de cadena ligera madura puede fusionarse a una región

constante de cadena ligera.

En cualquiera de los anticuerpos anteriores, la región constante de cadena pesada puede ser una forma mutante de la región constante humana natural que tiene unión
5 reducida a un receptor Fcγ en relación a la región constante humana natural.

En cualquiera de los anticuerpos anteriores, la región constante de cadena pesada puede ser de un isotipo IgG1 humano. En algunos anticuerpos, el alotipo es G1m3. En
10 algunos anticuerpos, el alotipo es G1m1.

La invención además proporciona un ácido nucleico que codifica cualquiera de las regiones variables de cadena pesada madura anteriormente mencionadas y/o cualquiera de la región variable de cadena ligera madura anteriormente
15 mencionada, por ejemplo, SEQ ID NO: 15, 17, 18, 19 y 20.

La invención además proporciona una célula huésped comprendiendo un vector que comprende cualquiera de los ácidos nucleicos anteriormente descritos.

La invención además proporciona un método para
20 tratar un paciente que tiene o se encuentra en riesgo de una enfermedad de cuerpos de Lewy, comprendiendo administrar al paciente un régimen eficaz de cualquiera de los anticuerpos anteriormente mencionados. En algunos métodos, la enfermedad es la enfermedad de Parkinson. En algunos métodos, se inhibe
25 la disminución de la función cognitiva en el paciente. En

algunos métodos, se reducen los agregados de alfa sinucleína neurítica y/o axonal. En algunos métodos, se reduce la distrofia neurítica en el paciente. En algunos métodos, se conserva la densidad sináptica y/o dendrítica. En algunos
5 métodos, el método conserva la sinaptofisina y/o MAP2 en el paciente.

La invención además proporciona un método para tratar a un paciente que tiene o se encuentra en riesgo de sinucleinopatía, comprendiendo administrar al paciente un
10 régimen eficaz de cualquiera de los anticuerpos anteriormente mencionados. En algunos métodos, la enfermedad es la enfermedad de Parkinson. En algunos métodos, la enfermedad es el trastorno de comportamiento de sueño REM (RBD). En algunos métodos, la enfermedad es Demencia de cuerpos de Lewy
15 (DLB) o la atrofia multisistémica (MSA). En algunos métodos, se inhibe la disminución de la función cognitiva en el paciente. En algunos métodos, se reducen los agregados de alfa sinucleína neurítica y/o axonal. En algunos métodos, se reduce la distrofia neurítica en el paciente. En algunos
20 métodos, se conserva la densidad sináptica y/o dendrítica. En algunos métodos, el método conserva la sinaptofisina y/o MAP2 en el paciente.

La invención además proporciona métodos para detectar los cuerpos de Lewy en un paciente que tiene o se
25 encuentra en riesgo de una enfermedad de cuerpos de Lewy,

comprendiendo administrar al paciente una cantidad eficaz de cualquiera de los anticuerpos anteriormente mencionados, en donde el anticuerpo se une a los cuerpos de Lewy y se detecta el anticuerpo unido. En algunos métodos, la enfermedad es la enfermedad de Parkinson. En algunos métodos, la enfermedad es Demencia de cuerpos de Lewy (DLB) o atrofia multisistémica (MSA). En algunos métodos, se etiqueta el anticuerpo.

La invención además proporciona un método para reducir la formación de cuerpos de Lewy en un paciente que tiene o se encuentra en riesgo de una enfermedad de cuerpos de Lewy, comprendiendo administrar al paciente una cantidad eficaz de cualquiera de los anticuerpos anteriormente mencionados. En algunos métodos, la enfermedad es la enfermedad de Parkinson. En algunos métodos, la enfermedad es Demencia de cuerpos de Lewy (DLB) o atrofia multisistémica (MSA). En algunos métodos, se inhibe la disminución de la función cognitiva en el paciente. En algunos métodos, se reducen los agregados de alfa sinucleína neurítica y/o axonal. En algunos métodos, se reduce la distrofia neurítica en el paciente. En algunos métodos, se conserva la densidad sináptica y/o dendrítica. En algunos métodos, el método conserva la sinaptofisina y/o MAP2 en el paciente.

La invención además proporciona un método para inhibir la agregación de sinucleína o depurar los cuerpos de Lewy o agregados de sinucleína en un paciente que tiene o se

encuentra en riesgo de una enfermedad de cuerpos de Lewy, comprendiendo administrar al paciente una cantidad eficaz de cualquiera de los anticuerpos anteriormente mencionados. En algunos métodos, la enfermedad es la enfermedad de Parkinson.

5 En algunos métodos, la enfermedad es Demencia de cuerpos de Lewy (DLB) o atrofia multisistémica (MSA). En algunos métodos, se inhibe la disminución de la función cognitiva en el paciente. En algunos métodos, se reducen los agregados de alfa sinucleína neurítica y/o axonal. En algunos métodos, se
10 reduce la distrofia neurítica en el paciente. En algunos métodos, se conserva la densidad sináptica y/o dendrítica. En algunos métodos, el método conserva la sinaptofisina y/o MAP2 en el paciente.

La invención además proporciona una composición
15 farmacéutica que comprende cualquiera de los anticuerpos anteriormente mencionados.

La invención además proporciona un método para producir un anticuerpo, comprendiendo cultivar las células transformadas con ácidos nucleicos que codifican las cadenas
20 ligeras y pesadas del anticuerpo, a fin de que la célula secrete el anticuerpo; y purificar el anticuerpo de los medios de cultivo celular; en donde el anticuerpo es cualquiera de los anticuerpos anteriormente descritos.

La invención además proporciona un método para
25 producir una línea celular que produce un anticuerpo,

comprendiendo introducir un vector que codifica las cadenas ligeras y pesadas de un anticuerpo y un marcador elegible en las células; propagar las células bajo condiciones para elegir las células que tienen el número de copia incrementado
5 del vector; aislar las células únicas de la célula seleccionada; y depositar en banco las células clonadas de una célula única seleccionada con base a la producción de anticuerpos; caracterizado porque el anticuerpo es cualquiera de los anticuerpos anteriormente descritos. Algunos de tales
10 métodos además comprenden propagar las células bajo condiciones selectivas y seleccionar las líneas celulares que expresan y secretan naturalmente al menos 100 mg/l/10⁶ células/24 h.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

15 La Figura 1 demuestra una alineación de las secuencias de aminoácidos del mAb murino parental (referido como m9E4) con la región variable madura de cadena pesada 9E4 humanizado. 1791009Hu9E4VHFr (SEQ ID NO: 7) es una secuencia V_H de aceptador humano. Las regiones CDR de acuerdo con la
20 definición de Kabat se encuentran subrayadas y en negrita.

La Figura 2 demuestra una alineación de las secuencias de aminoácidos del mAb murino parental (referido como m9E4) con la región variable madura de cadena ligera 9E4 humanizado. 63102889Hu9E4VLFr (SEQ ID NO: 2) es una
25 secuencia V_L de aceptador humano. Las regiones CDR de

acuerdo con la definición de Kabat se encuentran subrayadas y en negrita.

La Figura 3 demuestra los resultados de la inmunoterapia pasiva con 9E4 en el funcionamiento de la memoria en la parte del medidor de la prueba de laberinto de agua de Morris.

La Figura 4 demuestra los resultados de la inmunoterapia pasiva con 9E4 en velocidad y errores en la prueba de haz redondo.

La Figura 5 demuestra la inmunoprecipitación de diversas versiones de anticuerpos 9E4 humanizados hacia su antígeno tomado del tejido enfermo. Ch9E4: 9E4 quimérico; H1L3: Hu9E4VHv1-Hu9E4VLv3; H3L2: Hu9E4VHv3-Hu9E4VLv2; H3L3: Hu9E4VHv3-Hu9E4VLv3; N.S.=no específico.

La Figura 6 demuestra el Western blotting de la sinucleína humana recombinante con los anticuerpos 9E4 de ratón, quiméricos y humanizados.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS SECUENCIAS

SEQ ID NO: 1 es la secuencia de aminoácidos de la región variable m9E4VL.

SEQ ID NO: 2 es la secuencia de aminoácidos de la región variable 63102889Hu9E4VLFr.

SEQ ID NO: 3 es la secuencia de aminoácidos de la región variable Hu9E4VLv1.

SEQ ID NO: 4 es la secuencia de aminoácidos de la

región variable Hu9E4VLv2.

SEQ ID NO: 5 es la secuencia de aminoácidos de la
región variable Hu9E4VLv3.

5 SEQ ID NO: 6 es la secuencia de aminoácidos de la
región variable m9E4VH.

SEQ ID NO: 7 es la secuencia de aminoácidos de la
región variable 1791009Hu9E4VHFr.

SEQ ID NO: 8 es la secuencia de aminoácidos de la
región variable Hu9E4VHv1.

10 SEQ ID NO: 9 es la secuencia de aminoácidos de la
región variable Hu9E4VHv2.

SEQ ID NO: 10 es la secuencia de aminoácidos de la
región variable Hu9E4VHv3.

15 SEQ ID NO: 11 es la secuencia de aminoácidos de la
región variable Hu9E4VHv4.

SEQ ID NO: 12 es la secuencia de aminoácidos de
alfa-sinucleína tipo silvestre humana natural.

20 SEQ ID NO: 13 es la secuencia de aminoácidos de la
región constante de cadena ligera 9E4 humanizada, con la
Arginina en la terminal N.

SEQ ID NO: 14 es la secuencia de aminoácidos de la
región constante de cadena pesada 9E4 humanizada.

SEQ ID NO: 15 es la secuencia de nucleótidos de la
región variable Hu9E4VLv1.

25 SEQ ID NO: 16 es la secuencia de nucleótidos de la

región variable Hu9E4VLv2.

SEQ ID NO: 17 es la secuencia de nucleótidos de la
región variable Hu9E4VLv3.

5 SEQ ID NO: 18 es la secuencia de nucleótidos de la
región variable Hu9E4VHv1.

SEQ ID NO: 19 es la secuencia de nucleótidos de la
región variable Hu9E4VHv2.

SEQ ID NO: 20 es la secuencia de nucleótidos de la
región variable Hu9E4VHv3.

10 SEQ ID NO: 21 es la secuencia de nucleótidos de la
región variable Hu9E4VHv4.

SEQ ID NO: 22 es la secuencia de aminoácidos de
péptido de señal Hu9E4VL.

15 SEQ ID NO: 23 es la secuencia de nucleótidos de
péptido de señal Hu9E4VL.

SEQ ID NO: 24 es la secuencia de aminoácidos de
péptido de señal Hu9E4VH.

SEQ ID NO: 25 es la secuencia de nucleótidos de
péptido de señal Hu9E4VH.

20 SEQ ID NO: 26 es la secuencia de aminoácidos de
consenso Hu9E4VL.

SEQ ID NO: 27 es la secuencia de aminoácidos de
consenso Hu9E4VH.

25 SEQ ID NO: 28 es la secuencia de aminoácidos de la
región constante de cadena ligera 9E4 humanizada, sin la

Arginina en la terminal N.

SEQ ID NO: 29 es la secuencia de aminoácidos de la
cadena ligera 9E4 humanizada versión 3 que comprende (a) una
región variable y (b) y una región constante con la Arginina
5 en la terminal N.

SEQ ID NO: 30 es la secuencia de aminoácidos de la
cadena ligera 9E4 humanizada versión 3 que comprende (a) una
región variable y (b) y una región constante sin la Arginina
en la terminal N.

10 SEQ ID NO: 31 es la secuencia de aminoácidos de
cadena pesada 9E4 humanizada versión 3 que comprende una
región variable y una región constante.

SEQ ID NO: 32 es la secuencia de aminoácidos de la
versión BIP de la región constante de alotipo G1m3 de cadena
15 pesada 9E4 humanizada.

DEFINICIONES

Los anticuerpos monoclonales se proporcionan
típicamente en forma aislada. Esto significa que un
20 anticuerpo es típicamente al menos 50% p/p puro de proteínas
y otras macromoléculas que se originan de su producción o
purificación pero no excluye la posibilidad de que el
anticuerpo monoclonal se combine con un exceso de portador
(s) farmacéutico (s) aceptable (s) u otro vehículo pretendido
25 para facilitar su uso. En algunas ocasiones los anticuerpos

monoclonales son al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95 o 99% p/p puro de proteínas y otras macromoléculas de producción o purificación.

La unión específica de un anticuerpo monoclonal a su antígeno objetivo significa una afinidad de al menos 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , o 10^{10} M^{-1} . La unión específica es, de manera detectable, más alta en magnitud y distinguible de la unión no específica que ocurre hacia al menos un objetivo no relacionado. La unión específica puede ser el resultado de la formación de enlaces entre los grupos funcionales particulares o ajuste espacial particular (por ejemplo, tipo llave y cierre) mientras que la unión no específica normalmente es el resultado de las fuerzas de van der Waals. La unión específica, sin embargo, no implica necesariamente que un anticuerpo monoclonal se una a uno y sólo un objetivo.

La unidad estructural de anticuerpo básico es un tetrámero de subunidades. Cada tetrámero incluye dos pares idénticos de cadenas de polipéptidos, cada par teniendo una cadena "ligera" (aproximadamente 25 kDa) y una "pesada" (aproximadamente 50-70 kDa). La parte de terminal amino de cada cadena incluye la región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos principalmente responsables por el reconocimiento de antígeno. Esta región variable inicialmente se expresa ligada a un péptido de señal divisible. La región variable sin el péptido de señal en

ocasiones se refiere como una región variable madura. De esta manera, por ejemplo, una región variable madura de cadena ligera significa una región variable de cadena ligera sin el péptido de señal de cadena ligera. La parte de
5 terminal carboxi de cada cadena define una región constante principalmente responsable de la función del efector.

Las cadenas ligeras se clasifican ya sea como kappa o lambda. Las cadenas pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta, o épsilon, y definen el isotipo del anticuerpo
10 como IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente. Dentro de las cadenas pesadas y ligeras, las regiones constantes y variables se unen por una región "J" de aproximadamente 12 o más aminoácidos, con la cadena pesada también incluyendo una región "D" de aproximadamente 10 o más aminoácidos. (Véase,
15 en lo general, Inmunología Fundamental (Paul, W., ed., 2a ed. Raven Press, N.Y., 1989, Ch. 7, incorporada por referencia en su totalidad para todos los propósitos).

Las regiones variables maduras de cada par de cadena ligera/pesada forman el sitio de unión de anticuerpo.
20 De esta manera, un anticuerpo intacto tiene dos sitios de unión. A excepción de los anticuerpos bifuncionales o biespecíficos, los dos sitios de unión son los mismos. Todas las cadenas demuestran la misma estructura general de las regiones de estructura relativamente conservada (FR) unidas
25 por tres regiones hipervariables, también denominadas

regiones determinantes de complementariedad o CDRs. Las CDRs de las dos cadenas de cada par se alinean mediante las regiones de estructura, permitiendo la unión a un epítipo específico. De la terminal N a la terminal C, ambas cadenas pesadas y ligeras, comprenden los dominios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. La designación de aminoácidos a cada dominio es de acuerdo con las definiciones de Kabat, Secuencias de Proteínas de Interés Inmunológico (Instituto Nacional de Salud, Bethesda, MD, 1987 y 1991), o Chothia & Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); Chothia et al., Nature 342:878-883 (1989). Kabat también proporciona una convención de numeración ampliamente utilizada (numeración de Kabat) en la cual a los residuos correspondientes entre las diferentes cadenas pesadas o entre las diferentes cadenas ligeras, se les asigna el mismo número (por ejemplo, H83 significa la posición 83 por numeración de Kabat en la región variable de cadena pesada madura; de igual forma, la posición L36 significa la posición 36 por la numeración de Kabat en la región variable de cadena ligera madura).

El término "anticuerpo" incluye los anticuerpos intactos y los fragmentos de unión de los mismos. Típicamente, los fragmentos compiten con el anticuerpo intacto del cual se derivaron para la unión específica al objetivo incluyendo las cadenas pesadas separadas, cadenas ligeras Fab, Fab', F(ab')₂, F(ab)c, diacuerpos, nanocuerpos,

y Fv. Los fragmentos podrán producirse mediante técnicas de ADN recombinante, o mediante separación química o enzimática de las inmunoglobulinas intactas. El término "anticuerpo" también incluye un anticuerpo biespecífico y/o un anticuerpo humanizado. Un anticuerpo bifuncional o biespecífico es un anticuerpo híbrido artificial que tiene dos diferentes pares de cadena pesada/ligera y dos diferentes sitios de unión (véase, por ejemplo, Songsivilai y Lachmann, Clin. Exp. Immunol., 79:315-321 (1990); Kostelny et al., J. Immunol. 148:1547-53 (1992)). En algunos anticuerpos biespecíficos, los dos diferentes pares de cadena pesada/ligera incluyen un par de cadena ligera/cadena pesada de 9E4 humanizado y un par de cadena ligera/cadena pesada para un diferente epítopo en alfa sinucleína que la unida por 9E4. Los anticuerpos humanizados se discuten en lo general abajo en la Sección IV B.

El término "epítopo" se refiere a un sitio sobre un antígeno al cual se une un anticuerpo. Un epítopo puede formarse de los aminoácidos contiguos o los aminoácidos no contiguos yuxtapuestos por plegamiento terciario de una o más proteínas. Los epítopos formados de los aminoácidos contiguos normalmente se retienen en exposición a los solventes desnaturizantes mientras que los epítopos formados por plegamiento terciario normalmente se pierden en el tratamiento con los solventes desnaturizantes. Un

epítopo normalmente incluye al menos 3, y más comúnmente, al menos 5 u 8 aminoácidos en una configuración espacial única. Los métodos para determinar la configuración espacial de epítopos incluyen, por ejemplo, la cristalografía de rayos X y la resonancia magnética nuclear de 2 dimensiones. Véase, por ejemplo, *Protocolos de Trazado de Epítopos*, en *Métodos en Biología Molecular (Methods in Molecular Biology)*, Vol. 66, Glenn E. Morris, Ed. (1996).

Los anticuerpos que reconocen los epítopos sobrepuestos o iguales, podrán identificarse en un inmunoensayo simple que muestra la habilidad de un anticuerpo para competir con la unión de otro anticuerpo a un antígeno objetivo. El epítopo de un anticuerpo también puede definirse por la cristalografía de rayos X del anticuerpo unido a su antígeno para identificar los residuos de contacto. De manera alternativa, dos anticuerpos tienen el mismo epítopo si todas las mutaciones de aminoácidos en el antígeno que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo, reducen o eliminan la unión del otro. Dos anticuerpos tienen los epítopos sobrepuestos si algunas mutaciones de aminoácidos que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo reducen o eliminan la unión del otro.

La competencia entre los anticuerpos se determina por un ensayo en el cual un anticuerpo bajo prueba inhiben la unión específica de un anticuerpo de referencia a un antígeno

común (véase, por ejemplo, Junghans *et al.*, Investigación de
Cáncer 50:1495, 1990). Un anticuerpo de prueba compete con
un anticuerpo de referencia si un exceso de un anticuerpo de
prueba (por ejemplo, al menos 2x, 5x, 10x, 20x o 100x) inhibe
5 la unión del anticuerpo de referencia por al menos 50% pero
preferentemente 75%, 90% o 99% según se mide en un ensayo de
unión competitivo. Los anticuerpos identificados por el
ensayo de competencia (anticuerpos de competencia) incluyen
anticuerpos que se unen al mismo epítipo como el anticuerpo
10 de referencia y los anticuerpos que se unen a un epítipo
adyacente lo suficientemente próximo al epítipo unido por el
anticuerpo de referencia para que ocurra el impedimento
estérico.

Un "paciente" incluye un ser humano u otro sujeto
15 mamífero que recibe ya sea el tratamiento profiláctico o
terapéutico.

Para propósitos de clasificar las sustituciones de
aminoácidos como conservadoras o no conservadoras, los
aminoácidos se agrupan como sigue: Grupo I (cadenas laterales
20 hidrofóbicas): met, ala, val, leu, ile; Grupo II (cadenas
laterales hidrofílicas neutrales): cys, ser, thr; Grupo III
(cadenas laterales ácidas): asp, glu; Grupo IV (cadenas
laterales básicas): asn, gln, his, lys, arg; Grupo V
(residuos que incluyen en la orientación de la cadena): gly,
25 pro; y Grupo VI (cadenas laterales aromáticas): trp, tyr,

phe. Las sustituciones conservadoras incluyen las sustituciones entre los aminoácidos en la misma clase. Las sustituciones no conservadoras constituyen intercambiar un miembro de una de estas clases por un miembro de otra.

5 Las identidades de la secuencia de porcentaje se determinan con las secuencias de anticuerpo alineadas al máximo por la convención de la numeración de Kabat. Después de la alineación, si una región de anticuerpo sujeto (por ejemplo, la región variable madura entera de una cadena
10 ligera o pesada) está siendo comparada con la misma región de un anticuerpo de referencia, la identidad de la secuencia de porcentaje entre las regiones de anticuerpo de referencia y sujeto es el número de las posiciones ocupadas por el mismo aminoácido tanto en la región de anticuerpo de referencia
15 como de sujeto por el número total de posiciones alineadas de las dos regiones, con aberturas no contadas, multiplicadas por 100 para convertir al porcentaje.

Las composiciones o los métodos "que comprenden" uno o más elementos citados, pueden incluir otros elementos
20 no específicamente citados. Por ejemplo, una composición que comprende un anticuerpo puede contener el anticuerpo solo o en combinación con otros ingredientes.

La designación de un rango de valores incluye todos los enteros dentro del o que definen el rango, y todos los
25 sub-rangos definidos por los enteros dentro del rango.

Al menos que de otra manera sea aparente del contexto, el término "aproximadamente" comprende los valores dentro del SEM de un valor declarado.

Un individuo se encuentra en riesgo incrementado de una enfermedad si el sujeto tiene al menos un factor de riesgo conocido (por ejemplo, genética, bioquímica, historia familiar, exposición situacional) colocando a los individuos con ese factor de riesgo de desarrollar la enfermedad en un riesgo mayor estadísticamente significativo a los individuos sin el factor de riesgo.

El término "síntoma" se refiere a una evidencia subjetiva de una enfermedad, tal como marcha alterada, según se percibe por el paciente. Un "signo" se refiere a evidencia objetiva de una enfermedad según se observa por un médico.

La importancia estadística significa $p \leq 0.05$.

"Función cognitiva" se refiere a procesos mentales tales como alguno o todos los de atención, memoria, producción y comprensión del lenguaje, resolución de problemas, y creación de un interés en los alrededores de uno y el auto-cuidado.

"Función cognitiva mejorada" o "función cognitiva desarrollada" se refieren a la mejora en relación a una línea de referencia, por ejemplo, diagnóstico o inicio de tratamiento. "Declive de función cognitiva" se refiere a una

reducción en la función en relación a tal línea de referencia.

En sistemas de modelo de animal tal como rata o ratón, la función cognitiva puede medirse por los métodos que
5 utilizan un laberinto en el cual los sujetos utilizan la información espacial (por ejemplo, laberinto de agua de Morris, laberinto circular de Barnes, laberinto de brazos radiales elevados, laberinto T y otros), condicionamiento del miedo, evasión activa, campo abierto iluminado, medidor de
10 actividad en la oscuridad, laberinto en cruz elevado, prueba exploratoria en dos compartimentos o prueba de nado forzado.

En los seres humanos, la función cognitiva puede medirse por uno o más de las diversas pruebas estandarizadas. Se describieron los ejemplos de una prueba o ensayo para la
15 función cognitiva (Ruoppila, I. y Suutama, T. Scand. J. Soc. Med. Suppl. 53,44-65, 1997) e incluyen las pruebas psicométricas estandarizadas (por ejemplo, Escala de Memoria Wechsler, Escala de Inteligencia de Wechsler para Adultos, Matrices Progresivas Estándar de Raven, Prueba de Habilidades
20 Mentales de Schaie-Thurstone para Adultos), pruebas neuropsicológicas (por ejemplo, Luria-Nebraska), auto-evaluaciones metacognitivas (por ejemplo, Cuestionario de Metamemoria), pruebas de selección visual-espacial (por ejemplo, Figuras de Poppelreuter, Reconocimiento por Reloj,
25 Dibujo de Panal y Cancelación), pruebas de selección

cognitiva (por ejemplo, Mini Prueba del Estado Mental de Folstein) y pruebas de tiempo de reacción. Otras pruebas estándar para el funcionamiento cognitivo incluyen la Escala de Evaluación de la Enfermedad de Alzheimer-subescala cognitiva (ADAS-cog); la impresión clínica global de la 5 escala de cambios (escala CIBIC-plus); las Actividades del Estudio Cooperativo de la Enfermedad de Alzheimer de la Escala de la Vida Diaria (ADCS-ADL); el Mini Examen de Estado Mental (MMSE); el Inventario Neuropsiquiátrico (NPI); la 10 Escala de Valoración de Demencia Clínica (CDR); la Batería Automatizada de Prueba Neuropsicológica de Cambridge (CANTAB) o la Evaluación Clínica Geriátrica de Sandoz (SCAG), Prueba de Stroop, Elaboración de Pistas, Amplitud de Dígitos de Wechsler, y la prueba cognitiva computarizada CogState. 15 Además, la función cognitiva puede medirse utilizando las técnicas de representación por imágenes tales como Tomografía por Emisión de Positrones (PET), imagen de resonancia magnética funcional (fMRI), Tomografía Computarizada de Emisión Monofotónica (SPECT), o cualquier otra técnica de 20 representación por imágenes que permita a uno medir la función cerebral.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

I. General

La invención proporciona anticuerpos 9E4 25 humanizados. Los anticuerpos son útiles para el tratamiento

y los diagnósticos de una enfermedad de cuerpos de Lewy.

II. Moléculas Objetivo

La alfa sinucleína tipo silvestre humana natural es un péptido de 140 aminoácidos que tiene la siguiente
5 secuencia de aminoácidos:

MDVFMKGLSK AKEGVVAAAE KTKQGVAAEA GKTKEGVLYV GSKTKEGVVH
GVATVAEKTQ EQVTNVGGAV VTGVTAVAQK TVEGAGSIAA ATGFVKKDQL
GKNEEGAPQE GILEDMPVDP DNEAYEMPSE EGYQDYEPEA (ID NO SEC:12)

(Ueda *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1993) 90:11282-6).;
10 número de acceso del Banco Genético: P37840). La proteína
tiene tres dominios reconocidos, un dominio de repetición
KTKE que cubre los aminoácidos 1-61, un dominio NAC
(componente no amiloideo) que trata de aproximadamente 60-95
aminoácidos, y un dominio ácido de terminal C que trata de
15 aproximadamente 98 a 140 aminoácidos.

Al menos que sea aparente de otra manera del
contexto, la referencia a la alfa-sinucleína o sus fragmentos
incluye las secuencias de aminoácidos tipo silvestre humanas
naturales anteriormente indicadas, y las variantes alélicas
20 humanas de las mismas, particularmente las asociadas con la
enfermedad de cuerpos de Lewy (por ejemplo, E46K, A30P y
A53T, con la primera letra indica el aminoácido en la SEQ ID
NO: 12, el número es la posición de codón en SEQ ID NO: 12, y
la segunda letra es el aminoácido en la variante alélica).
25 Tales variantes opcionalmente podrán presentarse de manera

individual o en cualquier combinación en cualquiera de los aspectos de la invención arriba descritos. Las mutaciones inducidas E8EQ, A90V, A76T, que mejoran la agregación de alfa sinucleína, también podrán presentarse de manera individual o
5 en combinación entre sí y/o variantes alélicas humanas E46K, A30P y A53T.

III. Enfermedades de cuerpos de Lewy

Las Enfermedades de cuerpos de Lewy (LBD) se caracterizan por la degeneración del sistema dopaminérgico, alteraciones motrices, deterioro cognitivo, y formación de
10 cuerpos de Lewy (LBs). (McKeith et al., *Neurología "Neurology"* (1996) 47:1113-24). Los Cuerpos de Lewy son depósitos de proteína esférica encontrados en las neuronas. Su presencia en el cerebro rompe la función normal del cerebro interrumpiendo la acción de los mensajeros químicos
15 que incluyen la acetilcolina y la dopamina. Las enfermedades de cuerpos de Lewy incluyen la enfermedad de Parkinson (incluyendo la enfermedad de Parkinson idiopática), Enfermedad de cuerpos de Lewy Difusos (DLBD) también conocida
20 como Demencia de cuerpos de Lewy (DLB), variante de cuerpo de Lewy de la enfermedad de Alzheimer (LBV), enfermedad de Parkinson y Alzheimer Combinada y como atrofia multisistémica (MSA, por ejemplo, Atrofia Olivopontocerebelosa, Degeneración Estriatonigral y Síndrome de Shy-Drager). La DLBD comparte
25 los síntomas tanto de la enfermedad de Alzheimer como de

Parkinson. La DLBD difiere de la enfermedad de Parkinson principalmente en la ubicación de los Cuerpos de Lewy. En la DLBD, los Cuerpos de Lewy se forman principalmente en la corteza. En la enfermedad de Parkinson, se forman principalmente en la sustancia negra. Otras enfermedades de Cuerpos de Lewy incluyen la Insuficiencia Autonómica Pura, disfagia de cuerpos de Lewy, LBD Incidental, y LBD Heredada (por ejemplo, mutaciones del gen alfa-sinucleína, PARK3 y PARK4).

10 IV. Anticuerpos de la Invención

A. Especificidad de Unión y Propiedades Funcionales

Los anticuerpos humanizados de la invención se unen específicamente a la alfa sinucleína humana. La afinidad de algunos anticuerpos humanizados (es decir, Ka) se encuentra preferentemente dentro de un factor de cinco o dos de la del anticuerpo de ratón 9E4. Algunos anticuerpos humanizados tienen una afinidad que es la misma (dentro del error experimental) o mayor a la del anticuerpo de ratón 9E4. Los anticuerpos humanizados preferidos se unen al mismo epítipo y/o compiten con el anticuerpo de ratón 9E4 para la unión a la alfa sinucleína humana.

En algunos anticuerpos, el 9E4 humanizado forma un brazo de un anticuerpo biespecífico, el otro brazo del cual es un anticuerpo que se une a un receptor expresado en la barrera hematoencefálica, tal como un receptor de insulina,

un receptor de factor de crecimiento tipo insulina (IGF), un receptor de leptina, o un receptor de lipoproteína, o preferentemente un receptor de transferrina (Friden *et al.*, PNAS 88:4771-4775, 1991; Friden *et al.*, Science 259:373-377, 5 1993). Tal anticuerpo específico puede transferirse a través de la barrera hematoencefálica mediante la transcitosis mediada por el receptor. La captación cerebral del anticuerpo biespecífico además puede mejorarse al diseñar el anticuerpo biespecífico para reducir su afinidad al receptor 10 de barrera hematoencefálica. La afinidad reducida para el receptor dio como resultado una distribución más amplia en el cerebro (véase, por ejemplo, Atwal. *et al. Sci. Trans. Med.* **3**, 84ra43, 2011; Yu *et al. Sci. Trans. Med.* **3**, 84ra44, 2011).

Los anticuerpos biespecíficos ejemplares también 15 pueden ser (1) un anticuerpo de dominio de variable dual (DVD-Ig), en donde cada cadena ligera y cadena pesada contiene dos dominios variables en serie a través de un enlace de péptido corto (Wu *et al.*, Generación y Caracterización de una Molécula de Inmunoglobulina de Dominio 20 Variable Dual (DVD-IgTM), En: Diseño de Anticuerpos "Generation and Characterization of a Dual Variable Domain Immunoglobulin (DVD-IgTM) Molecule, In: Antibody Engineering", Springer Berlin Heidelberg (2010)); (2) un Tandab, que es una fusión de dos anticuerpos de cadena única que dan como 25 resultado un anticuerpo biespecífico tetravalente que tiene

dos sitios de unión para cada uno de los antígenos objetivo;
(3) un flexicuerpo, que es una combinación de scFvs con un
diacuerpo que da como resultado una molécula multivalente;
(4) una molécula tan llamada "dique y cierre", con base al
5 dominio de "dimerización y anclaje" en la Proteína Quinasa A,
que, cuando se aplica a Fabs, puede producir una proteína de
unión biespecífica trivalente que consiste de dos fragmentos
Fab idénticos unidos a un fragmento Fab diferente; (5) una
molécula tan llamada *Escorpión*, comprendiendo, por ejemplo,
10 dos scFvs fusionados a ambas terminales de una región Fc
humana. Los ejemplos de plataformas útiles para preparar los
anticuerpos biespecíficos incluyen pero no se limitan a BiTE
(Micromet), DART (MacroGenics), Fcab y Mab2 (Estrella-F),
IgG1 diseñado con Fc (Xencor) o DuoCuerpo (con base al
15 intercambio de brazos de Fab, Genmab).

B. Anticuerpos Humanizados

Un anticuerpo humanizado es un anticuerpo
genéticamente diseñado en el cual las CDRs de un anticuerpo
"donador" no humano se injertan en las secuencias de
20 anticuerpo "aceptador" (véase, por ejemplo, Queen *et al.*,
E.U. 5,530,101 y 5,585,089; Winter *et al.*, E.U. 5,225,539,
Carter, E.U. 6,407,213, Adair, E.U. 5,859,205 6,881,557,
Foote, E.U. 6,881,557). Las secuencias del anticuerpo
aceptador, por ejemplo, pueden ser una secuencia de región
25 variable de anticuerpo humano maduro, un compuesto de tales

secuencias, una secuencia de consenso de la secuencias de anticuerpo humano (por ejemplo, secuencias de consenso de región variable de cadena pesada y ligera de Kabat, 1991, supra), o una secuencia de región variable de línea germinal.

5 Una secuencia de aceptador preferida para la cadena pesada es la región variable de cadena pesada madura humana con el código de acceso NCBI AAC50998 (GI: 1791009) u otra región variable de cadena pesada madura derivada de la línea germinal IGHV3-7'01 o IGHV3-7'02 (nombre de clones V3-7 o

10 VH3-11) (Glas et al., Clin Exp Immunol. 107:372-80, 1997) o una secuencia de región variable de cadena pesada madura que incorpora una de estas secuencias de línea germinal. Para la cadena ligera, una secuencia de aceptador preferida es la región variable madura de cadena ligera con código de acceso

15 NCBI AAY33350 (GI:63102889) u otra secuencia de cadena ligera madura derivada de la línea germinal IGKV1D-39 o IGKV1-39 (nombre de clon O2 o O12) (Kramer et al., Eur J Immunol. 35:2131-45, 2005) o una secuencia de región variable madura de cadena ligera que incorpora una de estas secuencias de

20 línea germinal. De esta manera, un anticuerpo humanizado de la invención es un anticuerpo que tiene tres CDRs de cadena ligera y tres de cadena pesada según se define por Kabat del anticuerpo donador de 9E4 y secuencias de estructura de región variable madura y regiones constantes, si se

25 presentan, completa o sustancialmente de las secuencias de

anticuerpo humano. De igual forma, una cadena pesada humanizada es una cadena pesada que tiene tres CDRs de cadena pesada según se define por Kabat de la cadena pesada del anticuerpo 9E4, y una secuencia variable de cadena pesada madura y secuencia de región constante de cadena pesada, si se presentan, completa o sustancialmente de la secuencia de cadena pesada de anticuerpo humano. De igual forma una cadena ligera humanizada es una cadena ligera que tiene tres CDRs de cadena ligera según se define por Kabat de la cadena ligera del anticuerpo 9E4, y una secuencia variable de cadena ligera madura y secuencia de región constante de cadena ligera, si se presentan, completa o sustancialmente de la secuencia de cadena ligera de anticuerpo humano. Las secuencias de estructura de región variable madura de una cadena de anticuerpo o la secuencia de región constante de una cadena de anticuerpo son sustancialmente de una secuencia de estructura de región variable madura humana o una secuencia de región constante humana respectivamente cuando al menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de los residuos correspondientes definidos por Kabat, son idénticos.

Ciertos aminoácidos de los residuos de estructura de región variable madura humana podrán seleccionarse por sustitución con base a su influencia posible en la configuración de CDR y/o unión a antígeno. La investigación de tales influencias posibles es por modelado, evaluación de

las características de los aminoácidos en ubicaciones particulares, u observación empírica de los efectos de sustitución o mutagénesis de aminoácidos particulares.

Por ejemplo, cuando un aminoácido difiere entre un
5 residuo de estructura de región variable madura murino y un residuo de estructura de región variable madura humana, el aminoácido de estructura humana puede sustituirse por el aminoácido de estructura equivalente del anticuerpo de ratón cuando se espera razonablemente que el aminoácido:

- 10 (1) se une de manera no covalente al antígeno directamente,
- (2) se encuentre adyacente a una región CDR,
- (3) de otra forma interactúe con una región CDR (por ejemplo, se encuentre dentro de aproximadamente 6Å de
15 una región CDR)
- (4) medie la interacción entre las cadenas pesadas y ligeras.

La invención proporciona formas humanizadas del anticuerpo 9E4 de ratón que incluyen tres regiones variables
20 maduras de cadena ligera humanizada (Hu9E4VLv1-v3; SEC ID NOs:3-5) y cuatro regiones variables maduras de cadena pesada humanizada ejemplificadas (Hu9E4VHv1-v4; SEC ID NOs:8-11). SEQ ID NO: 4 incluye las tres CDRs de Kabat de la cadena ligera 9E4 de ratón y las estructuras de región variable
25 madura de AAY33350. SEC ID NOS. 3 y 5 incluyen las

mutaciones regresivas según se muestra en la Tabla 2. SEC ID NO. 11 incluye las tres CDRs de Kabat de las estructuras de región variable madura y 9E4 de ratón de AAC50998. SEC ID NOs:8-10 incluyen las mutaciones regresivas según se muestra
5 en la Tabla 3.

La invención proporciona variantes del anticuerpo 9E4 humanizado en el cual la región variable madura de cadena pesada humanizada demuestra al menos 90%, 95% o 99% de identidad a las SEC ID NOs:8-11 y la región variable madura
10 de cadena ligera humanizada demuestra al menos 90, 95 o 99% de identidad de la secuencia a las SEC ID NOs:3-5, pero en las cuales cualquier variación de la SEC ID NO. designada ocurre en una estructura de región variable madura en lugar de una CDR de Kabat. En algunos de tales anticuerpos, la
15 posición L36 se encuentra ocupada por Y o F, y/o la posición L83 se encuentra ocupada por F o L, y/o la posición H73 se encuentra ocupada por N o D y/o la posición H93 se encuentra ocupada por A o S (todas las posiciones aquí, como en cualquier parte, en esta solicitud son por numeración de
20 Kabat). En algunos de tales anticuerpos, algunas o todas las mutaciones regresivas en Hu9E4VLv1-v3 y Hu9E4VHv1-v4 se retienen. En otras palabras, una o ambas de las posiciones de cadena pesada H73 y H93 se encuentra ocupada por D y A respectivamente. De igual forma, en algunos anticuerpos una
25 o ambas de las posiciones de cadena ligera L36 y L83 se

encuentra ocupada por F y L respectivamente. En algunos anticuerpos, 1, 2, 3 o todas las cuatro de las posiciones H73, H93, L36 y L83 se encuentra (n) ocupada (s) por D, A, F y L respectivamente. En algunos anticuerpos, 0, 1, o 2
5 posiciones se cambian en la estructura de región variable madura de cadena pesada en relación a la SEQ ID NO: 11, y 0, 1, o 2 posiciones se cambian en la estructura de región variable madura de cadena ligera en relación a la SEQ ID NO: 4.

10 Algunos anticuerpos comprenden una cadena pesada humanizada que comprende las tres CDRs de Kabat de la SEQ ID NO: 11 y una cadena ligera humanizada que comprende las tres CDRs de Kabat de la SEQ ID NO: 4 con la condición de que la posición L36 (numeración de Kabat) se encuentre ocupada por F
15 o Y y/o la posición L83 (numeración de Kabat) se encuentre ocupada por L o F y/o la posición H73 (numeración de Kabat) se encuentre ocupada por D o N, y/o la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentre ocupada por S o A. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 (numeración de
20 Kabat) se encuentra ocupada por F. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F y la posición L83 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por L. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 (numeración de
25 encuentra ocupada por F y la posición H73 (numeración de

Kabat) se encuentra ocupada por D. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F y la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F y la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por A. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F, la posición L83 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por L, y la posición H73 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F, la posición L83 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por L, y la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F, la posición L83 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por L, y la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por A. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F, la posición H73 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D, y la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F, la posición L83 se encuentra

ocupada por F, la posición H73 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D, y la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F, la posición H73 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D, y la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por A. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F, la posición L83 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por L, la posición H73 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D, y la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F, la posición L83 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por L, la posición H73 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D, y la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por A. En algunos de tales anticuerpos, la posición L83 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por L. En algunos de tales anticuerpos, la posición L83 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por L y la posición H73 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D. En algunos de tales anticuerpos, la posición L83 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por L y la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S. En algunos de tales

anticuerpos, la posición L83 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por L y la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por A. En algunos de tales anticuerpos, la posición L83 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por L, la posición H73 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D, y la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S. En algunos de tales anticuerpos, la posición L83 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por L, la posición H73 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D, y la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por A. En algunos de tales anticuerpos, la posición H73 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D. En algunos de tales anticuerpos, la posición H73 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D y la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S. En algunos de tales anticuerpos, la posición H73 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D y la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por A. En algunos de tales anticuerpos, la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S. En algunos de tales anticuerpos, la posición H93 (numeración de Kabat) se encuentra ocupada por A. En algunos de tales anticuerpos, la posición L36 se encuentra ocupada por Y, la posición L83 se encuentra ocupada por F, la posición H73 se encuentra ocupada por N y la posición H93 se encuentra ocupada por S.

Algunos anticuerpos ejemplares con los residuos deseables en las posiciones L36, L83, H73 y H93 y combinaciones de los mismos se enlistan en la Tabla 1 de abajo:

Tabla 1: Anticuerpos ejemplares con residuos deseables en las posiciones L36, L83, H73 y H93 (numeración de Kabat).

Anticuerpo Ejemplar	L36	L83	H73	H93
1	F	F	N	A
2	F	L	N	A
3	F	F	D	A
4	F	F	N	S
5 (versión 3)	F	L	D	A
6	F	L	N	S
7 (versión 1)	F	F	D	S
8	F	L	D	S
9	Y	L	N	A
10	Y	L	D	A
11	Y	L	N	S
12	Y	L	D	S
13	Y	F	D	A
14	Y	F	D	S
15 (versión 2)	Y	F	N	S

En algunos anticuerpos, la región variable madura de cadena pesada tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 10. En algunas modalidades, la región variable madura de cadena ligera tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 5 o SEQ ID NO: 3. En algunos de tales anticuerpos, la región variable madura de cadena pesada tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 10, y la región variable madura de cadena ligera tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 5 o SEQ ID NO: 3. En algunos de tales anticuerpos, la región variable madura de cadena pesada tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 10, y la región variable madura de cadena ligera tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 5.

Otras sustituciones de aminoácido podrán hacerse en la estructura de región variable madura, por ejemplo, en los residuos que no se encuentran en contacto con las CDRs. De manera frecuente, los reemplazos hechos en las secuencias humanizadas variantes son conservadores con respecto a los aminoácidos reemplazados. En algunos anticuerpos, los reemplazos en relación a Hu9E4VLv1-v3 y Hu9E4VHv1-v4 (sean o no conservadores) no tienen efecto sustancial sobre la afinidad de unión o potencia del anticuerpo resultante en relación a Hu9E4VLv1-v3 y Hu9E4VHv1-v4; es decir, su habilidad para unir la alfa sinucleína humana.

Las variantes normalmente difieren de las

secuencias de región variable madura de cadena ligera y pesada de Hu9E4VLv1-v3 y Hu9E4VHv1-v4 por un pequeño número (por ejemplo, normalmente no más de 1, 2, 3, 5 o 10 ya sea en la estructura de región variable madura de cadena pesada o de 5 cadena ligera, o ambas) de reemplazos, supresiones o inserciones.

C. Selección de Región Constante

Las regiones variables de cadena pesada y ligera de los anticuerpos humanizados podrán enlazarse a al menos una 10 parte de una región constante humana. La elección de la región constante depende, en parte, ya sea que se deseen la citotoxicidad mediada por la célula dependiente de anticuerpo, la fagocitosis celular dependiente de anticuerpo y/o la citotoxicidad dependiente de complemento. Por 15 ejemplo, los isotipos humanos IgG1 e IgG3 tienen citotoxicidad dependiente de complemento y los isotipos humanos IgG2 e IgG4 no. Los IgG1 e IgG3 humanos también inducen las funciones del efector mediadas por células más fuertes que los IgG2 e IgG4 humanos. Las regiones constantes 20 de cadena ligera pueden ser lambda o kappa. Una región constante de kappa de cadena ligera humana ejemplar tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13. Algunas de tales regiones constantes de kappa de cadena ligera podrán codificarse por una secuencia de ácido nucleico. La arginina 25 de terminal N de la SEQ ID NO: 13 puede omitirse, en cuyo

caso la región constante de kappa de cadena ligera tiene la
secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28. Algunas de
tales regiones constantes de kappa de cadena ligera podrán
codificarse por una secuencia de ácido nucleico. Una región
5 constante de cadena pesada de IgG1 humano ejemplar tiene la
secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14 (con o sin la
lisina de terminal C). Algunas de tales regiones constantes
de cadena pesada podrán codificarse por una secuencia de
ácido nucleico. Los anticuerpos podrán expresarse como
10 tetrámeros que contienen dos cadenas pesadas y dos ligeras,
como las cadenas pesadas separadas, cadenas ligeras, como
Fab, Fab', F(ab')₂, y Fv, o como los anticuerpos de cadena
única en los cuales los dominios de variable madura de cadena
ligera y pesada se enlazan a través de un separador.

15 Las regiones constantes humanas demuestran la
variación alotípica y la variación isoalotípica entre los
diferentes individuos, es decir, las regiones constantes
podrán diferir en diferentes individuos en una o más
posiciones polimórficas. Los isoalotipos difieren de los
20 alotipos en aquel suero que reconoce un isoalotipo unido a
una región no polimórfica de uno u otros más isotipos. De
esta manera, por ejemplo, otra región constante de cadena
pesada es de alotipo IgG1 G1m3 y tiene la secuencia de
aminoácidos de la SEQ ID NO: 32. Todavía otra región
25 constante de cadena pesada tiene la secuencia de aminoácidos

de la SEQ ID NO: 32 a excepción de la que carece de la lisina de terminal C.

Uno o varios aminoácidos en la terminal amino o carboxi de la cadena ligera y/o pesada, tal como la lisina de terminal C de la cadena pesada, puede ser faltante o derivarse en una proporción o todas las moléculas. Las sustituciones podrán elaborarse en las regiones constantes para reducir o incrementar la función del efector tal como la citotoxicidad mediada por complemento o ADCC (véase, por ejemplo, Winter *et al.*, Patente de E.U. No. 5,624,821; Tso *et al.*, Patente de E.U. No. 5,834,597; y Lazar *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:4005, 2006), o prolongar la vida media en seres humanos (véase, por ejemplo, Hinton *et al.*, J. Biol. Chem. 279:6213, 2004). Las sustituciones ejemplares incluyen un Gln en la posición 250 y/o un Leu en la posición 428 (se utiliza la numeración de E.U. en este párrafo para la región constante) para incrementar la vida media de un anticuerpo. La sustitución en cualquiera o todas las posiciones 234, 235, 236 y/o 237 reducen la afinidad para los receptores Fcγ, particularmente el receptor FcγRI (véase, por ejemplo, E.U. 6,624,821). Algunos anticuerpos tienen la sustitución de alanina en las posiciones 234, 235 y 237 de IgG1 humano para reducir las funciones del efector. Opcionalmente, las posiciones 234, 236 y/o 237 en IgG2 humano se sustituyen con la alanina en la posición 235 con glutamina

(véase, por ejemplo, E.U. 5,624,821).

D. Expresión de Anticuerpos Recombinantes

Los anticuerpos podrán producirse por la expresión recombinante. Los ácidos nucleicos que codifican los anticuerpos podrán optimizarse por codón para la expresión en el tipo de célula deseada (por ejemplo, CHO o Sp2/0). Las construcciones de ácido nucleico recombinantes incluyen normalmente una secuencia de control de expresión unido operativamente a las secuencias de codificación de las cadenas de anticuerpo, incluyendo las regiones promotoras heterólogas o asociadas naturalmente. Las secuencias de control de expresión podrán ser sistemas promotores eucarióticos en los vectores capaces de transformar o transfectar las células huésped eucarióticas. Una vez que el vector se ha incorporado en el huésped adecuado, el huésped se mantiene bajo condiciones adecuadas para el alto nivel de expresión de las secuencias de nucleótidos, y la colección y la purificación de los anticuerpos de reacción cruzada. El vector o los vectores que codifican las cadenas de anticuerpo también pueden contener un gen elegible, tal como la dehidrofolato reductasa, para permitir la amplificación del número de copias de los ácidos nucleicos que codifican las cadenas de anticuerpo.

E. coli es un huésped procariótico particularmente útil para expresar anticuerpos, particularmente fragmentos de

anticuerpo. Los microbios, tal como la levadura también son útiles para la expresión. *Saccharomyces* es un huésped de levadura preferido, con los vectores adecuados que tienen secuencias de control de expresión, un origen de repetición, 5 secuencias de terminación y lo similar, según se desee. Los promotores típicos incluyen la 3-fosfoglicerato quinasa y otras enzimas glicolíticas. Los promotores de levadura inducibles incluyen, entre otros, promotores de alcohol deshidrogenasa, isocitocromo C, y las enzimas responsables de 10 las utilizaciones de maltosa y galactosa.

Las células de mamífero podrán utilizarse para expresar los segmentos de nucleótidos que codifican las inmunoglobulinas o fragmentos de las mismas. Véase Winnacker, *De Genes a Clones*, (Editores VCH, NY, 1987). Un 15 número de líneas celulares huésped adecuadas capaces de secretar las proteínas heterólogas intactas se han desarrollado en la técnica, e incluyen líneas celulares de CHO, diversas líneas celulares de COS, células HeLa, células HEK293, células L, y mielomas que producen no anticuerpo 20 incluyendo Sp2/0 y NS0. Puede ser ventajoso utilizar las células no humanas. Los vectores de expresión para estas células pueden incluir las secuencias de control de expresión, tal como un origen de repetición, un promotor, un reforzador (Queen *et al.*, *Immunol. Rev.* 89:49 (1986)), y los 25 sitios de información de procesamiento necesarios, tales como

los sitios de unión de ribosoma, sitios de empalme de ARN, sitios de poliadenilación, y secuencias de terminador transcripcional. Las secuencias de control de expresión adecuadas son promotores derivados de genes endógenos, 5 citomegalovirus, SV40, adenovirus, virus de papiloma de bovino, y lo similar. Véase Co et al., *J. Immunol.* 148:1149 (1992).

Habiendo introducido el (los) vector (es) que codifican las cadenas pesadas y ligeras de anticuerpo en 10 cultivo celular, los grupos celulares podrán seleccionarse por la productividad de crecimiento y calidad del producto en el medio libre de suero. Los grupos celulares de producción superior podrán someterse entonces a la clonación de célula única con base a FACS para generar las líneas monoclonales. 15 Las productividades específicas arriba de 50 pg o 100 pg por célula por día, que corresponden para producir las concentraciones de más de 7.5 g/L de cultivo, pueden ser ventajosas. Los anticuerpos producidos por los clones de célula única también podrán probarse por turbidez, 20 propiedades de filtración, PAGE, IEF, exploración por UV, HP-SEC, trazado de oligosacáridos de carbohidrato, espectrometría en masa, y ensayo de unión, tal como ELISA o Biacore. Un clon seleccionado puede entonces depositarse en banco en múltiples frascos y almacenarse congelado para uso 25 posterior.

Una vez expresados, los anticuerpos podrán purificarse de acuerdo con los procedimientos estándares de la técnica, incluyendo la captación de proteína A, cromatografía de columna (por ejemplo, interacción
5 hidrofóbica o intercambio de iones), pH bajo para inactivación viral y lo similar (véase en lo general, Alcances, *Purificación de Proteína "Protein Purification"* (Springer-Verlag, NY, 1982)).

La metodología para la producción comercial de los
10 anticuerpos que incluyen la optimización de codón, la selección de promotores, los elementos de transcripción, y terminadores, la clonación de célula única libre de suero, depósito en banco de células, uso de los marcadores de selección para la amplificación del número de copias, el
15 terminador CHO, la clonación de célula única libre de suero, la mejora de las concentraciones de proteína (véase, por ejemplo, E.U. 5,786,464, E.U. 6,114,148, E.U. 6,063,598, E.U. 7,569,339, WO2004/050884, WO2008/012142, WO2008/012142, WO2005/019442, WO2008/107388, y WO2009/027471, y E.U.
20 5,888,809).

V. Ácidos Nucleicos

La invención además proporciona ácidos nucleicos que codifican cualquiera de las cadenas ligeras y pesadas anteriormente descritas. Normalmente, los ácidos nucleicos
25 también codifican un péptido de señal fusionado a las cadenas

pesadas y ligeras maduras (por ejemplo, péptidos de señal que tienen secuencias de aminoácidos de la SEC ID NOS:22 y 24 que podrán codificarse por SEC ID NOS:23 y 25). Las secuencias de codificación en los ácidos nucleicos pueden ser en un
5 enlace operable con las secuencias reguladoras para asegurar la expresión de las secuencias de codificación, tal como un promotor, reforzador, sitio de unión de ribosoma, señal de terminación de transcripción y lo similar. Los ácidos nucleicos que codifican las cadenas pesadas y ligeras pueden
10 ocurrir en forma aislada o podrán clonarse en uno o más vectores. Los ácidos nucleicos podrán sintetizarse por ejemplo, mediante síntesis de estado sólido o PCR de los oligonucleótidos sobrepuestos. Los ácidos nucleicos que codifican las cadenas pesadas y ligeras podrán unirse como un
15 ácido nucleico contiguo, por ejemplo, dentro de un vector de expresión, o podrán separarse, por ejemplo, cada uno clonado en su propio vector de expresión.

VI. Aplicaciones Terapéuticas

La invención proporciona varios métodos para tratar
20 o efectuar la profilaxis de la enfermedad de cuerpos de Lewy en pacientes que padecen de o se encuentran en riesgo de tal enfermedad. Los pacientes dispuestos al tratamiento incluyen individuos en riesgo de la enfermedad de una LBD pero que no muestran síntomas, así como también los pacientes que
25 actualmente muestran síntomas o los signos de advertencia

tempranos de sinucleinopatías, por ejemplo, disminución de EEG, manifestaciones neuropsiquiátricas (depresión, demencia, alucinaciones, ansiedad, apatía, anhedonia), cambios autonómicos (hipotensión ortostática, alteraciones de vesícula, estreñimiento, incontinencia fecal, sialorrea, 5 disfagia, disfunción sexual, cambios en el flujo sanguíneo cerebral), cambios sensoriales (olfativos, dolor, sensaciones anormales de discriminación por color), trastornos del sueño (trastorno del comportamiento de sueño REM (RBD), síndrome de 10 las piernas inquietas/movimientos periódicos de las extremidades, hipersomnio, insomnio) y entre otras cosas otros signos y síntomas (fatiga, diplopía, visión nublada, seborrea, pérdida/ganancia de peso). Por consiguiente, los métodos actuales podrán administrarse profilácticamente a los 15 individuos quienes tienen un riesgo genético conocido de una LBD. Tales individuos incluyen aquellos que tienen familiares que han experimentado esta enfermedad, y aquellos que se encuentran en riesgo se determinan por el análisis de marcadores bioquímicos o genéticos. Los marcadores genéticos 20 de riesgo hacia PD incluyen las mutaciones en la alfa-sinucleína o Parkina, genes UCHLI y CYP2D6; particularmente las mutaciones en las posiciones 30 y 53 del gen de alfa-sinucleína. Los individuos que actualmente padecen de la enfermedad de Parkinson podrán reconocerse de sus 25 manifestaciones clínicas incluyendo el estremecimiento en

reposo, rigidez muscular, bradiquinesia e inestabilidad postural.

En los pacientes asintomáticos, el tratamiento podría iniciar en cualquier edad (por ejemplo, 10, 20, 30).
5 Sin embargo, comúnmente, no es necesario iniciar el tratamiento hasta que un paciente alcance los 40, 50, 60 o 70 años. Normalmente el tratamiento implica las múltiples dosis durante un período de tiempo. El tratamiento puede monitorearse mediante el ensayo de anticuerpos, o las
10 respuestas de célula B o célula T activadas a un agente terapéutico (por ejemplo, una forma truncada de péptido alfa-sinucleína) a través del tiempo. Si falla la respuesta, se indica una dosis estimulante.

Los anticuerpos podrán utilizarse para tratar o
15 efectuar la profilaxis de enfermedad de cuerpos de Lewy en pacientes mediante la administración bajo condiciones que generan una respuesta terapéutica benéfica en un paciente (por ejemplo, la reducción de agregados de alfa-sinucleína neurítica y/o axonal, la reducción de distrofia neurítica, la
20 mejora de la función cognitiva, y/o la regresión, tratamiento o prevención de la disminución cognitiva) en el paciente. En algunos métodos, las áreas de distrofia neurítica en el neuropilo de neocorteza y/o ganglios basales podrán reducirse por un promedio al menos 10%, 20%, 30% o 40% en pacientes
25 tratados en comparación con una población de control.

El deterioro cognitivo, la disminución progresivo en la función cognitiva, los cambios en la morfología del cerebro, y los cambios en la función cerebrovascular se observan comúnmente en pacientes que padecen de o se encuentran en riesgo de enfermedad de cuerpos de Lewy. La administración de los presentes anticuerpos puede inhibir o retrasar la disminución de la función cognitiva en tales pacientes.

La invención también proporciona los métodos para conservar o incrementar la densidad sináptica y/o densidad dendrítica. Un índice de cambios en la densidad sináptica o dendrítica puede medirse por los marcadores de la formación de sinapsa (sinaptofisina) y/o dendritas (MAP2). En algunos métodos, la densidad sináptica o dendrítica puede restaurarse al nivel de densidad sináptica o dendrítica en un sujeto saludable. En algunos métodos, el nivel promedio de la densidad sináptica o dendrítica en los pacientes tratados puede elevarse por 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% o más según se compara a una población de los pacientes de control sin tratar.

VII. Composiciones Farmacéuticas y Métodos de Tratamiento

En las aplicaciones profilácticas, un anticuerpo o agente para inducir un anticuerpo o una composición farmacéutica igual se administra a un paciente susceptible a, o de otra forma se encuentra en riesgo de una enfermedad en

un régimen (dosis, frecuencia y vía de administración) eficaz para reducir el riesgo, disminuir la severidad, o retrasar el inicio de al menos un signo o síntoma de la enfermedad. En algunas aplicaciones profilácticas, el régimen es eficaz para
5 inhibir o retrasar la acumulación de la alfa sinucleína y los fragmentos truncados en el cerebro, e/o inhibir o retrasar sus efectos tóxicos e/o inhibir/o retrasar el desarrollo de los déficits conductuales. En las aplicaciones terapéuticas, un anticuerpo o agente para inducir un anticuerpo se
10 administra a un paciente que sospecha de, o ya se encuentra padeciendo de una enfermedad de cuerpos de Lewy en un régimen (dosis, frecuencia y vía de administración) eficaz para aminorar o al menos inhibir el deterioro adicional de al menos un signo o síntoma de la enfermedad. En algunas
15 aplicaciones terapéuticas, el régimen es eficaz para reducir o al menos inhibir el incremento adicional de los niveles de la alfa sinucleína y los fragmentos truncados, las toxicidades asociadas y/o déficits conductuales.

Un régimen se considera terapéutica o
20 profilácticamente eficaz si un paciente tratado de manera individual logra un resultado más favorable que el resultado medio en una población de control de los pacientes comparables no tratados por los métodos de la invención, o si un resultado más favorable se demuestra en pacientes tratados
25 contra los pacientes de control en un ensayo clínico

controlado (por ejemplo, un ensayo de fase II, fase II/III o fase III) en el nivel $p < 0.05$ o 0.01 o incluso 0.001 .

Las dosis eficaces varían dependiendo de los varios factores diferentes, incluyendo los medios de administración, sitio objetivo, estado fisiológico del paciente que incluye
5 el tipo de la enfermedad de cuerpos de Lewy, ya sea el paciente sea un portador ApoE, ya sea el paciente sea un ser humano o un animal, otros medicamentos administrados, y ya sea el tratamiento sea profiláctico o terapéutico.

10 Un rango de dosis ejemplar para los anticuerpos es de aproximadamente 0.01 a 5 mg/kg , y más comúnmente 0.1 a 3 mg/kg o $0.15\text{--}2 \text{ mg/kg}$ o $0.15\text{--}1.5 \text{ mg/kg}$, del peso corporal del paciente. Al anticuerpo puede administrársele tales dosis diarias, en días alternativos, semanales, quincenales,
15 mensuales, trimestrales, o de acuerdo a cualquier otro horario determinado por análisis empírico. Un tratamiento ejemplar incluye la administración en múltiples dosis durante un período prolongado, por ejemplo, de al menos seis meses. Los regímenes de tratamiento ejemplares adicionales incluyen
20 la administración una vez por cada dos semanas o una vez al mes o una vez cada 3 a 6 meses.

Los anticuerpos podrán ser administrados por medio de una vía periférica, es decir, una en la cual el anticuerpo inducido o administrado cruza la barrera hematoencefálica
25 para alcanzar un sitio pretendido en el cerebro. Las vías de

administración incluyen la local, intravenosa, oral, subcutánea, intraarterial, intracraneal, intratecal, intraperitoneal, intranasal o intramuscular. Algunas vías de administración de anticuerpos son intravenosas y subcutáneas.

5 Este tipo de inyección normalmente se lleva a cabo en el brazo o los músculos de la pierna. En algunos métodos, los agentes se inyectan directamente en un tejido particular en donde los depósitos se han acumulado, por ejemplo, inyección intracraneal.

10 Las composiciones farmacéuticas para la administración parenteral podrán ser estériles y sustancialmente isotónicas y elaborarse bajo condiciones GMP. Las composiciones farmacéuticas podrán proporcionarse en forma de dosis única (es decir, la dosis para una
15 administración única). Las composiciones farmacéuticas podrán formularse utilizando uno o más portadores, diluyentes, excipientes o auxiliares fisiológicamente aceptables. La formulación depende de la vía de administración elegida. Para inyección, los anticuerpos
20 podrán formularse en soluciones acuosas, preferentemente en reguladores fisiológicamente compatibles tales como la solución de Hank, solución de Ringer, o salina fisiológica o regulador de acetato (para reducir el malestar en el sitio de inyección). La solución puede contener agentes formuladores
25 tales como los agentes de suspensión, estabilización y/o

dispersión. Alternativamente, los anticuerpos pueden ser en forma liofilizada para constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua libre de pirógeno estéril, antes de su uso.

Los regímenes actuales podrán administrarse en
5 combinación con otro agente eficaz en el tratamiento o profilaxis de la enfermedad que se está tratando. Por ejemplo, en el caso de la enfermedad de Parkinson, la inmunoterapia contra la alfa sinucleína WO/2008/103472, Levodopa, combatientes de dopamina, inhibidores de COMT,
10 inhibidores de MAO-B, Amanadina, o agentes anticolinérgicos podrán utilizarse en combinación con los regímenes actuales.

VIII. Otras Aplicaciones

Los anticuerpos anteriormente descritos podrán utilizarse para detectar la alfa-sinucleína en el contexto
15 del diagnóstico clínico o tratamiento o en investigación. Los anticuerpos también podrán venderse como reactivos de investigación para la investigación de laboratorio en la detección de las células que llevan la alfa-sinucleína y su respuesta a diversos estímulos. En tales usos, los
20 anticuerpos monoclonales podrán etiquetarse con moléculas fluorescentes, moléculas etiquetadas por giro, enzimas o radioisotipos, y podrán proporcionarse en la forma de un kit con todos los reactivos necesarios para llevar a cabo el ensayo para la alfa-sinucleína. Los anticuerpos también
25 podrán utilizarse para purificar la alfa-sinucleína, por

ejemplo, mediante cromatografía por afinidad.

Los anticuerpos podrán utilizarse para detectar los LBs en un paciente. Tales métodos son útiles para diagnosticar o confirmar el diagnóstico de PD, u otra
5 enfermedad asociada con la presencia de LBs en el cerebro, o susceptibilidad a los mismos. Por ejemplo, los métodos podrán utilizarse en un paciente que presenta síntomas de demencia. Si el paciente tiene LBs, entonces el paciente es probable que padezca de una enfermedad de cuerpos de Lewy,
10 tal como la enfermedad de Parkinson. Los métodos también podrán utilizarse en pacientes asintomáticos. La presencia de los cuerpos con Lewy u otros depósitos anormales de la alfa-sinucleína indica la susceptibilidad a la enfermedad sintomática futura. Los métodos también son útiles para
15 monitorear el avance de la enfermedad y/o la respuesta al tratamiento en pacientes que han sido previamente diagnosticados con una enfermedad de cuerpos de Lewy.

Los métodos podrán llevarse a cabo al administrar un anticuerpo y después detectar el anticuerpo después de que
20 se ha unido. Si se desea, la respuesta de depuración puede evitarse al utilizar un fragmento de anticuerpo que carece de una región constante de longitud completa, tal como un Fab. En algunos métodos, el mismo anticuerpo puede servir tanto como de tratamiento como de reactivo de diagnóstico.

25 Para diagnóstico (por ejemplo, la representación

por imágenes *in vivo*), los anticuerpos podrán administrarse mediante inyección intravenosa en el cuerpo del paciente, o directamente en el cerebro mediante inyección intracraneal o mediante perforación de un agujero a través del cráneo. La
5 dosis de reactivo deberá encontrarse dentro de los mismos rangos que para los métodos de tratamiento. Normalmente, el anticuerpo se etiqueta, a pesar de que en algunos métodos, el anticuerpo no se etiqueta y un agente de etiquetado secundario se utiliza para unirse al anticuerpo. La elección
10 de la etiqueta depende del medio de detección. Por ejemplo, una etiqueta fluorescente es adecuada para la detección óptica. El uso de las etiquetas paramagnéticas es adecuado para la detección tomográfica sin la intervención quirúrgica. Las etiquetas radioactivas también podrán detectarse
15 utilizando PET o SPECT.

El diagnóstico se lleva a cabo al comparar el número, tamaño y/o la intensidad de los sitios etiquetados hacia los valores de línea de referencia correspondientes. Los valores de línea de referencia pueden representar los
20 niveles promedio en una población de los individuos no enfermos. Los valores de línea de referencia también pueden representar los niveles previos determinados en el mismo paciente. Por ejemplo, los valores de línea de referencia podrán determinarse en un paciente antes de iniciar el
25 tratamiento, y los valores medidos de allí en adelante en

comparación con los valores de línea de referencia. Una reducción en los valores en relación a la línea de referencia señala una respuesta positiva al tratamiento.

Los anticuerpos podrán utilizarse para generar los anticuerpos anti-idiotipo (véase por ejemplo, Greenspan & Bona, FASEB J. 7(5):437-444, 1989; y Nissinoff, J. Immunol. 147:2429-2438, 1991). Tales anticuerpos anti-idiotipo podrán utilizarse en estudios de farmacocinética, farmacodinámica, biodistribución así como también en estudios de las respuestas de anticuerpo humano-anti-humano clínico (HAHA) en individuos tratados con los anticuerpos. Por ejemplo, los anticuerpos anti-idiotípicos se unen específicamente a la región variable de anticuerpos 9E4 humanizados y por consiguiente, podrán utilizarse para detectar los anticuerpos 9E4 humanizados en estudios farmacocinéticos y ayudar a cuantificar las respuestas de anticuerpo humano-anti-humano (HAHA) en individuos tratados.

Todas las presentaciones de patente, el sitio de red, otras publicaciones, los números de acceso y lo similar arriba o abajo citadas se incorporan por referencia en su totalidad para todos los propósitos al mismo grado como si cada punto individual se indicara específica e individualmente que se incorpora así por referencia. Si se asocian las diferentes versiones de una secuencia con un número de acceso en diferentes tiempos, se entiende la

versión asociada con el número de acceso en la fecha de presentación efectiva de esta solicitud. La fecha de presentación efectiva significa la más temprana de la fecha de presentación actual o la fecha de presentación de una solicitud de prioridad que se refiere al número de acceso si es aplicable. De igual forma, si las diferentes versiones de una publicación, el sitio de red o lo similar se publican en diferentes tiempos, se entiende la versión más recientemente publicada en la fecha de presentación efectiva de la solicitud al menos que se indique de otra manera. Cualquier característica, etapa, elemento, modalidad, o aspecto de la invención puede utilizarse en combinación con cualquier otra al menos que se indique específicamente de otra manera. A pesar de que la presente invención se ha descrito en cierto detalle a manera de ilustración y ejemplo para propósitos de claridad y comprensión, será aparente que ciertos cambios y modificaciones podrán practicarse dentro del alcance de las reivindicaciones anexas.

EJEMPLOS

20 EJEMPLO I. Diseño de anticuerpos 9E4 humanizados

El punto de partida o el anticuerpo donador para la humanización es el anticuerpo de ratón 9E4 producido por el hibridoma que tiene el No. de Acceso ATCC PTA-8221 y se describe en la Solicitud de Patente de E.U. No. 11/710,248 (número de publicación US2009/0208487). La variable kappa

(Vκ) de 9E4 pertenece al subgrupo de Kabat de ratón 1, el cual corresponde al subgrupo de Kabat humano 1. La variable pesada (Vh) de 9E4 pertenece al subgrupo de Kabat de ratón 3d el cual corresponde al subgrupo de Kabat humano 3 (Kabat et al., Secuencias de Proteínas de Interés Inmunológico "Sequences of Proteins of Immunological Interest", Quinta Edición. Publicación NIH No. 91-3242, 1991). La numeración de Kabat se utiliza a lo largo de este Ejemplo.

El residuo-17 CDR-L1 pertenece a la clase canónica 3, el residuo-7 CDR-L2 pertenece a la clase 1, y el residuo-9 CDR-L3 pertenece a la clase 1 en Vκ (Martin & Thornton, J Mol Biol. 263:800-15, 1996). El residuo-5 CDR-H1 pertenece a la clase 1, y el residuo-17 CDR-H2 pertenece a la clase 2 (Martin & Thornton, J Mol Biol. 263:800-15, 1996). CDR-H3 no tiene clases canónicas, pero el bucle del residuo-7 tiene una base deformada de acuerdo con las normas de Shirai et al. (FEBS Lett. 455:188-97, 1999).

Se hizo una búsqueda sobre las secuencias de proteína en la base de datos PDB (Deshpande et al., Ácidos Nucleicos Res. 33 "Nucleic Acids Res. 33": D233-7, 2005) para encontrar estructuras que pudieran proporcionar un modelo de estructura irregular de 9E4. La estructura de cristal del anticuerpo quimérico X836 (pdb código 3MBX) (Teplyakov et al., Mol Immunol., 47(14):2422-6, 2010) fue elegida por la estructura Vκ ya que tuvo buena resolución (1.6Å) y similitud

de la secuencia global a 9E4 V κ , reteniendo las mismas estructuras canónicas para los bucles. 1H3P (Pizarro *et al.*, FEBS Lett. 509:463-8, 2001) se utilizó para la estructura Vh. Tuvo buena similitud de la secuencia global y resolución
5 razonable (2.6Å), pero también tuvo la misma longitud CDR-H3 con una base deformada. Además, CDRs-H1 y H2 tuvieron las mismas estructuras canónicas como 9E4 Vh. Vista Profunda/Visor Suizo-Pdv 3.7 (SP5) (Guex y Peitsch, Electroforesis 18: 2714-2723, 1997) se utilizó modelado de
10 estructura.

Una búsqueda de la base de datos de la secuencia de proteína no redundante de NCBI permitió la selección de las estructuras humanas adecuadas en la cual se injertó las CDRs murino. Para V κ , se eligió una cadena ligera kappa humana
15 con código de acceso NCBI AAY33350 (GI:63102889) (Kramer *et al.*, Eur J Immunol. 35:2131-45, 2005). Tiene las mismas clases canónicas para CDR-L2 y L3 como 9E4, y pertenece a la línea germinal humana IGKV1D-39 o IGKV1-39 (nombre de clon O2 u O12) de acuerdo con la convención IMGT. Es un miembro del
20 subgrupo kappa humano de Kabat 1. Para Vh, se eligió la cadena pesada de Ig humano con código de acceso NCBI AAC50998 (GI:1791009) (Glas *et al.*, Clin Exp Immunol. 107:372-80, 1997), nuevamente con las mismas clases canónicas como 9E4 y perteneciendo a la línea germinal humana IGHV3-7'01 o IGHV3-
25 7'02 (nombre de clones V3-7 o VH3-11). Es un miembro de

subgrupo pesado humano de Kabat 3.

Las siguientes posiciones que difieren entre las estructuras de región de variable de donador de ratón y aceptador humano se identificaron como por ser candidatos para la mutación regresiva. H73 se encuentra en el borde del sitio de unión por antígeno e interactúa con CDR-H2. H93 es un residuo de interfase que se sitúa por debajo de los bucles de CDR-H1 y H3. L36 es un residuo de interfase V κ /V λ . L83 se encuentra en proximidad cercana al dominio constante. En 9E4, L83 es una leucina, mientras que en la estructura humana, L83 es una fenilalanina de aminoácido más grande.

Se elaboran tres cadenas pesadas humanizadas y tres cadenas ligeras humanizadas incorporando mutaciones regresivas en diferentes permutaciones de estas posiciones (Figs. 1A, B, alineación de la secuencia, y Tablas 2-3).

Tabla 2 Mutaciones regresivas V_H

Variante V_H	Secuencia de aceptador exón V_H	residuos de estructura de donador
Hu9E4VHv1	código de acceso NCBI AAC50998	H73, H93
Hu9E4VHv2	código de acceso NCBI AAC50998	H93
Hu9E4VHv3	código de acceso NCBI AAC50998	H73

Tabla 3 Mutaciones regresivas V_L

	Variante V_L	Secuencia de aceptador exón V_L	residuos de estructura de donador
5	Hu9E4VLv1	código de acceso NCBI AAY33350	L36
	Hu9E4VLv2	código de acceso NCBI AAY33350	Ninguno
10	Hu9E4VLv3	código de acceso NCBI AAY33350	L36, L83

Versión 1 >9E4Vk

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSIQTLLYSSNQKNYLAWFQQKPGKAPKLLIYWASIRK
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID
15 NO: 3)

Versión 2 >9E4Vk

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSIQTLLYSSNQKNYLAWYQQKPGKAPKLLIYWASIRK
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID
20 NO: 4)

Versión 3 >9E4Vk

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSIQTLLYSSNQKNYLAWFQQKPGKAPKLLIYWASIRK
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDLATYYCQQYYSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID
25 NO: 5)

Versión 1 >9E4vh

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASISSGGGSTYYP

DNVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCSRGGAGIDYWGQGTLLTVSS (SEQ

ID NO: 8)

Versión 2 >9E4vh

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASISSGGGSTYYP

5 DNVKGRFTISRDN~~A~~AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCSRRGGAGIDYWGQGTLLTVSS (SEQ

ID NO: 9)

Versión 3 >9E4vh

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASISSGGGSTYYP

DNVKGRFTISR~~D~~AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGAGIDYWGQGTLLTVSS (SEQ

10 ID NO: 10)

La numeración de Kabat para cadena ligera AAY33350
y cadena pesada AAC50998 se enlistan abajo:

Numeración de Kabat para cadena ligera AAY33350:

L1 D	L2 I	L3 Q	L4 M	L5 T	L6 Q	L7 S	L8 P	L9 S
15 L10 S	L11 L	L12 S	L13 A	L14 S	L15 V	L16 G	L17 D	L18 R
L19 V	L20 T	L21 I	L22 T	L23 C	L24 R	L25 A	L26 S	L27 Q
L28 S	L29 I	L30 S	L31 S	L32 Y	L33 L	L34 N	L35 W	L36 Y
L37 Q	L38 Q	L39 K	L40 P	L41 G	L42 K	L43 A	L44 P	L45 K
L46 L	L47 L	L48 I	L49 Y	L50 A	L51 A	L52 S	L53 S	L54 L
20 L55 Q	L56 S	L57 G	L58 V	L59 P	L60 S	L61 R	L62 F	L63 S
L64 G	L65 S	L66 G	L67 S	L68 G	L69 T	L70 D	L71 F	L72 T
L73 L	L74 T	L75 I	L76 S	L77 S	L78 L	L79 Q	L80 P	L81 E
L82 D	L83 F	L84 A	L85 T	L86 Y	L87 Y	L88 C	L89 Q	L90 Q
L91 S	L92 Y	L93 S	L94 T	L95 P	L96 L	L97 T	L98 F	L99 G
25 L100 G	L101 G	L102 T	L103 K	L104 L	L105 E	L106 I	L107 K	L108 -

L109 - L110 - L111 -

Numeración de Kabat para cadena pesada AAC50998:

	H1 E	H2 V	H3 Q	H4 L	H5 V	H6 E	H7 S	H8 G	H9 G
	H10 G	H11 L	H12 V	H13 Q	H14 P	H15 G	H16 G	H17 S	H18 L
5	H19 R	H20 L	H21 S	H22 C	H23 A	H24 A	H25 S	H26 G	H27 F
	H28 T	H29 F	H30 S	H31 S	H32 Y	H33 W	H34 M	H35 S	H36 W
	H37 V	H38 R	H39 Q	H40 A	H41 P	H42 G	H43 K	H44 G	H45 L
	H46 E	H47 W	H48 V	H49 A	H50 N	H51 I	H52 K	H52A Q	H53 D
	H54 G	H55 S	H56 E	H57 K	H58 Y	H59 Y	H60 V	H61 D	H62 S
10	H63 V	H64 K	H65 G	H66 R	H67 F	H68 T	H69 I	H70 S	H71 R
	H72 D	H73 N	H74 A	H75 K	H76 N	H77 S	H78 L	H79 Y	H80 L
	H81 Q	H82 M	H82A NH	H82B SH	H82C LH	H83 R	H84 A	H85 E	H86 D
	H87 T	H88 A	H89 V	H90 Y	H91 Y	H92 C	H93 A	H94 R	H95 G
	H96 S	H97 S	H98 D	H99 M	H100 -	H101 DH	H102 YH	H103 WH	H104 G
15	H105 Q	H106 G	H107 TH	H108 LH	H109 VH	H110 TH	H111 VH	H112 SH	H113 S
	H114 -								

El número de Kabat de otras regiones variables de
cadena ligera y pesada podrán determinarse por alineación con
los residuos correspondientes asignados al mismo número o
20 utilizando el software comercialmente disponible.

Tabla 4. Numeración de Kabat de los residuos
de estructura preferida para la mutación regresiva en
anticuerpos 9E4 humanizados.

5

	Cadena ligera AAV333 50	Cadena pesada AAC50998	9E4 de ra- tón	9E4 v1 huma- nizado	9E4 v2 huma- nizado	9E4 v3 huma- nizado	9E4 v4 huma- nizado (cadena pesada)
L36	Y	-	F	F	Y	F	-
L83	F	-	L	F	F	L	-
H73	-	N	D	D	N	D	N
H93	-	A	S	S	S	A	A

EJEMPLO II. Inmunización Pasiva con anticuerpos α -
10 sinucleína

La meta de este experimento es determinar la efectividad de los anticuerpos α -sinucleína en estudios *in vitro* e *in vivo* así como también los ensayos conductuales. Utilizamos α -sinucleína transgénica (Línea 61), *knockout* de
15 α -sinucleína y ratones hembra tipo silvestre de 3-4 meses de edad al inicio y n=14/grupo. Los anticuerpos probados incluyeron 9E4 (IgG1, epítipo: aminoácidos 118-126 de alfa sinucleína, 5C1 (IgG1, epítipo: aminoácidos 118-126 de alfa sinucleína, enlazador-c), 5D12, IgG2 (SN118-126), 1H7, IgG1
20 (SN 91-99) y un anticuerpo de control IgG1 27-1. Los ratones recibieron una dosis de 10 mg/kg durante un período de 5 meses, por un total de 21 inyecciones. Además, los animales fueron inyectados con lentivirus (LV) que expresan α -sinucleína humana (wt) por introducción unilateral de α -
25 sinucleína humana (wt) en el hipocampo.

Los anticuerpos lectores incluyen aquellos de Chemicon (epítipo: alfa sinucleína de longitud total), Millipore (epítipo: alfa sinucleína de longitud total) y Neotope, ELADW 105 (epítipo: aminoácidos 121-124 de alfa sinucleína de longitud total).

Puntos Finales: Las concentraciones de anticuerpo se midieron durante la fase en vida. Los ensayos conductuales incluyen la prueba de haz horizontal y la prueba de laberinto de agua de Morris (MWW). La prueba de haz redondo es una prueba de balance de motor, coordinación y marcha conducidos utilizando dos haces de diámetro variante. El haz A es el diámetro más grande (más fácil, considerado el haz de entrenamiento) y el Haz D es el diámetro más pequeño (más difícil, considerado el haz de prueba). La información se presenta como "errores" (número de pasos en falso/10 cm) y "velocidad" (tiempo tomado para viajar 10 cm/seg.). El funcionamiento de Laberinto de Agua se llevó a cabo en las semanas 10 y se dio por terminado. Se tomaron las siguientes mediciones de neuropatología: agregación de alfa sinucleína, sinaptofisina, y MAP2. Se tomaron las siguientes mediciones de bioquímica: alfa sinucleína, PSD95, sinaptofisina. El multietiquetado y el etiquetado confocal seleccionados se llevaron a cabo utilizando marcadores sinápticos, neuronales y gliales.

Los resultados demostraron que todos los

anticuerpos, a excepción de 5D12, produjeron una reducción significativa en la acumulación y preservación de α -syn de densidades sinápticas y dendríticas, así como también resultados positivos en el funcionamiento de MWM. El anticuerpo 9E4 es eficaz en los estudios *in vitro* e *in vivo* así como también los ensayos conductuales. Los lectores indican que el anticuerpo puede reducir los agregados de alfa sinucleína neurítica/axonal.

Resultados Conductuales: El anticuerpo 9E4 mejoró el funcionamiento de laberinto de agua en ratones transgénicos α -sinucleína (Figuras 3-4). En contraste, el anticuerpo 5D12 no mejoró el funcionamiento de laberinto de agua en ratones transgénicos de α -sinucleína (Figura 4). Los anticuerpos 9E4 y 1H7 mejoraron el funcionamiento en la prueba de haz según se mide tanto por la velocidad como por errores, mientras que los anticuerpos 5D12 y 5C1 no lo hacen (Figura 4).

Resultados de Neuropatología: Los anticuerpos 9E4, 1H7 y 5C1 redujeron la distrofia neurítica positiva ELADW-105, mientras que el anticuerpo 5D12 no. En los ratones transgénicos de alfa sinucleína, el anticuerpo 9E4 redujo el área de neuropilo por 43% en neocorteza y por 40% en ganglios basales según se comparó al control. El anticuerpo 9E4 también conservó la sinaptofisina y MAP2 en la neocorteza y los ganglios basales.

EJEMPLO III. Inmunoprecipitación

La inmunoprecipitación se llevó a cabo para probar la eficacia de unión de las diversas versiones de los anticuerpos 9E4 humanizados hacia su antígeno tomado del tejido enfermo (Figura 5). 150 mg de lisatos de cerebro Tris-solubles de la Demencia con los cerebros de Cuerpo Lewy se inmunoprecipitaron con 5 mg de cada anticuerpo indicado utilizando las perlas magnéticas de Proteína G (Biolaboratorios de Nueva Inglaterra). Las muestras se lavaron 5 veces con PBS/350 mM de NaCl/0.5% de NP-40, se hirvieron, y las muestras resultantes se resolvieron por SDS-PAGE. Después del manchado, las membranas se incubaron con Ab5038 (Millipore), un anticuerpo policlonal que detecta la sinucleína total. El experimento se repitió tres veces para confirmar la exactitud.

EJEMPLO IV. Western blot

El Western blotting de la sinucleína humana recombinante con los anticuerpos 9E4 humanizados y quiméricos de ratón, se muestra en la Figura 6. Las curvas de dilución de anticuerpo fueron aparentemente similares para los anticuerpos 9E4 humanizados y quiméricos de ratón. Todos los anticuerpos detectaron una banda a 28 kDa y una segunda banda a 49 kDa. Es probable que la banda 49 kDa sea un multímero de sinucleína.

Las cantidades indicadas de la sinucleína tipo

silvestre humana bacterialmente expresada, recombinante, se resolvieron por SDS-PAGE, y se mancharon con cantidades idénticas de la forma indicada de 9E4. Después de lavarse, se aplicaron los anticuerpos policlonales de cabra adecuados por especie conjugados para el fluoróforo IRDye-800, y se lavó la mancha. Los tiempos de exposición fueron idénticos para los diferentes anticuerpos.

DEPÓSITO

El siguiente hibridoma se ha depositado bajo las condiciones del Tratado de Budapest con la Colección de Cultivo Tipo Americano (ATCC, P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108) en la fecha indicada. Este depósito se mantendrá en un depósito autorizado y se reemplazó en el caso de mutación, no viabilidad o la destrucción por un período de al menos cinco años después de que se recibió por el depósito la solicitud más reciente para la liberación de una muestra, por un período de al menos treinta años después de la fecha del depósito, o durante la vida ejecutable de la patente relacionada, cualquiera que sea el período más largo. Todas las restricciones sobre la disponibilidad al público de estas líneas celulares serán removidas irrevocablemente tras la emisión de una patente de la solicitud.

Anticuerpo monoclonal	Línea Celular	Epítipo/ Especificidad	Isotipo	Fecha de Depósito	No. de Acceso
9E4	JH17.9E4.3. 37.1.14.2	Residuos alfa- sinucleína 118-126	IgG1 κ	26 de Febrero de 2007	PTA- 8221

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo que comprende una región variable de cadena pesada madura que comprende las tres CDRs de Kabat de la SEQ ID NO: 11, y siendo al menos 90% idéntica
5 a la SEQ ID NO: 11, y una cadena ligera que comprende las tres CDRs de Kabat de la SEQ ID NO: 4, y siendo al menos 90% idéntica a la SEQ ID NO: 4.

2. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura tiene una
10 secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 10 y la región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 5.

3. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura tiene una
15 secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 10 y la región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 3.

4. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura tiene una
20 secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 8 y la región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 3.

5. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura tiene una
25 secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 8 y la región

variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 4.

6. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura tiene una
5 secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 8 y la región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 5.

7. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura tiene una
10 secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 9 y la región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 3.

8. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura tiene una
15 secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 9 y la región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 4.

9. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura tiene una
20 secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 9 y la región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 5.

10. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura tiene una
25 secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 10 y la región

variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 4.

11. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura tiene una
5 secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 11 y la región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 3.

12. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura tiene una
10 secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 11 y la región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 4.

13. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura tiene una
15 secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 11 y la región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 5.

14. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura es al menos 95%
20 idéntica a la SEQ ID NO: 11 y la región variable de cadena ligera madura es al menos 95% idéntica a la SEQ ID NO: 4.

15. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura tiene una
secuencia de aminoácidos al menos 98% idéntica a la SEQ ID
25 NO: 11 y la región variable de cadena ligera madura tiene una

secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEQ ID NO: 4.

16. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura tiene una
5 secuencia de aminoácidos al menos 99% idéntica a la SEQ ID NO: 11 y la región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEQ ID NO: 4.

17. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde
10 la región variable de cadena pesada madura tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11 y la región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEQ ID NO: 4.

18. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde
15 la región variable de cadena pesada madura tiene una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEQ ID NO: 11 y la región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos al menos 98% idéntica a la SEQ ID NO: 4.

19. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde
20 la región variable de cadena pesada madura tiene una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEQ ID NO: 11 y la región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos al menos 99% idéntica a la SEQ ID
25 NO: 4.

20. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura tiene una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEQ ID NO: 11 y la región variable de cadena ligera madura tiene una
5 secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 4.

21. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura tiene una secuencia de aminoácidos al menos 98% idéntica a la SEQ ID NO: 11 y la región variable de cadena ligera madura tiene una
10 secuencia de aminoácidos al menos 98% idéntica a la SEQ ID NO: 4.

22. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la región variable de cadena pesada madura tiene una secuencia de aminoácidos al menos 99% idéntica a la SEQ ID
15 NO: 11 y la región variable de cadena ligera madura tiene una secuencia de aminoácidos al menos 99% idéntica a la SEQ ID NO: 4.

23. El anticuerpo de la reivindicación 1, siempre que la posición L36 (Numeración de Kabat) se encuentre
20 ocupada por F.

24. El anticuerpo de la reivindicación 1, siempre que la posición L83 (Numeración de Kabat) se encuentre ocupada por L.

25. El anticuerpo de la reivindicación 1, siempre
25 que la posición H73 (Numeración de Kabat) se encuentre

ocupada por D.

26. El anticuerpo de la reivindicación 1, siempre que la posición H93 (Numeración de Kabat) se encuentre ocupada por S.

5 27. El anticuerpo de la reivindicación 1, siempre que la posición H93 (Numeración de Kabat) se encuentre ocupada por A.

28. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena
10 pesada madura es SEQ ID NO: 11 y la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera madura es SEQ ID NO: 4 excepto que siempre que la posición L36 (Numeración de Kabat) pueda ocuparse por Y o F, la posición L83 (Numeración de Kabat) pueda ocuparse por F o L, la posición H73 (Numeración
15 de Kabat) pueda ocuparse por N o D y la posición H93 (Numeración de Kabat) pueda ocuparse por A o S.

29. Un anticuerpo que comprende una cadena pesada humanizada que comprende las tres CDRs de Kabat de la SEQ ID NO: 11 y una cadena ligera humanizada que comprende las tres
20 CDRs de la SEQ ID NO: 4 siempre que la posición L36 (Numeración de Kabat) se encuentre ocupada por F y/o la posición L83 (Numeración de Kabat) se encuentre ocupada por L y/o la posición H73 (Numeración de Kabat) se encuentre ocupada por D, y/o la posición H93 (Numeración de Kabat) se
25 encuentre ocupada por S.

30. El anticuerpo de la reivindicación 29, en donde la posición L36 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F y la posición H73 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D, y la posición H93 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S.

31. El anticuerpo de la reivindicación 29, en donde la posición L36 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F y la posición H93 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S.

10 32. El anticuerpo de la reivindicación 29, en donde la posición L36 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F y la posición H73 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D.

15 33. El anticuerpo de la reivindicación 29, en donde la posición H73 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D y la posición H93 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S.

20 34. El anticuerpo de la reivindicación 29, en donde la posición H93 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S.

35. El anticuerpo de la reivindicación 29, en donde la posición H73 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D.

25 36. El anticuerpo de la reivindicación 29, en donde la posición L36 (Numeración de Kabat) se encuentra

ocupada por F y la posición L83 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por L y la posición H73 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D, y la posición H93 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S.

5 37. El anticuerpo de la reivindicación 29, en donde la posición L36 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F y la posición L83 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por L y la posición H93 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por S.

10 38. El anticuerpo de la reivindicación 29, en donde la posición L36 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por F y la posición L83 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por L y la posición H73 (Numeración de Kabat) se encuentra ocupada por D.

15 39. El anticuerpo de cualquier reivindicación precedente, en donde la región variable de cadena pesada madura se fusiona a una región constante de cadena pesada y la región constante de cadena ligera madura se fusiona a una región constante de cadena ligera.

20 40. El anticuerpo de la reivindicación 39, en donde la región constante de cadena pesada tiene la secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 14 siempre que el residuo de lisina de terminal C pueda omitirse.

25 41. El anticuerpo de la reivindicación 39, en donde la región constante de cadena ligera tiene la secuencia

de aminoácidos designada SEQ ID NO: 13.

42. El anticuerpo de la reivindicación 39, en donde la cadena ligera tiene la región constante designada SEQ ID NO: 28.

5 43. El anticuerpo de cualquier reivindicación precedente, en donde la región constante de cadena pesada es una forma mutante de la región constante humana natural que tiene la unión reducida a un receptor Fc γ en relación a la región constante humana natural.

10 44. El anticuerpo de cualquier reivindicación precedente, en donde la región constante de cadena pesada es de isotipo IgG1 humano.

 45. Un ácido nucleico que codifica una región variable de cadena pesada madura y/o una región variable de
15 cadena ligera madura como se define por cualquier reivindicación precedente.

 46. El ácido nucleico de la reivindicación 45 que tiene una secuencia que comprende cualquiera de las SEQ ID NO: 15, 17, 18, 19, y 20.

20 47. Una célula huésped que comprende un vector que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 45 o 46.

 48. Un método para tratar a un paciente que tiene o que se encuentra en riesgo de una sinucleinopatía, que comprende administrar al paciente un régimen eficaz de un
25 anticuerpo como se define por cualquiera de las

reivindicaciones 1-40.

49. El método de la reivindicación 48, en donde el paciente tiene el trastorno de comportamiento del sueño REM (RBD).

5 50. Un método para detectar los cuerpos de Lewy en un paciente que tiene o se encuentra en riesgo de la enfermedad de cuerpos de Lewy, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un anticuerpo como se define por cualquiera de las reivindicaciones 1-44, en donde el
10 anticuerpo se une a los cuerpos de Lewy; y detectar el anticuerpo unido en el paciente.

51. El método de la reivindicación 50, en donde el anticuerpo se etiqueta.

52. Un método para reducir la formación de cuerpos
15 de Lewy en un paciente que tiene o se encuentra en riesgo de la enfermedad de cuerpos de Lewy, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un anticuerpo como se define por cualquiera de las reivindicaciones 1-44.

53. Un método para inhibir la agregación de
20 sinucleína o reducir los cuerpos de Lewy o agregados de sinucleína en un paciente que tiene o se encuentra en riesgo de la enfermedad de cuerpos de Lewy, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un anticuerpo como se define por cualquiera de las reivindicaciones 1-44.

25 54. El método de cualquiera de las

reivindicaciones 48-53, en donde la enfermedad es la enfermedad de Parkinson.

55. El método de cualquiera de las reivindicaciones 48-53, en donde la enfermedad es una atrofia
5 multisistémica (MSA) o Demencia con Cuerpos de Lewy (DLB).

56. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo como se define por cualquiera de las reivindicaciones 1-44.

57. Un método para producir un anticuerpo, que
10 comprende cultivar células transformadas con ácidos nucleicos que codifican las cadenas pesada y ligera del anticuerpo, de tal manera que las células secreten el anticuerpo; y purificar el anticuerpo de los medios de cultivo celulares; en donde el anticuerpo se define por cualquiera de las
15 reivindicaciones 1-44.

58. Un método para producir una línea celular que produce un anticuerpo, que comprende introducir un vector que codifica las cadenas pesada y ligera de un anticuerpo y un marcador elegible en las células; propagar las células bajo
20 condiciones para elegir las células que tienen el número de copias incrementado del vector; aislar las células únicas de la célula seleccionada; y depositar en banco las células clonadas de una célula única seleccionada con base a la producción de anticuerpos; en donde el anticuerpo es un
25 anticuerpo como se define por cualquiera de las

reivindicaciones 1-44.

59. El método de la reivindicación 58, que comprende además propagar las células bajo condiciones selectivas y seleccionar las líneas celulares que expresan y
5 secretan de manera natural al menos 100 mg/l/10⁶ células/24 h.

60. El método según cualquiera de las reivindicaciones 48, 52-53, en donde se inhibe la disminución de la función cognitiva en el paciente.

61. El método de cualquiera de las
10 reivindicaciones 48, 52-53, en donde se reducen los agregados de alfa sinucleína axonal y/o neurítica.

62. El método de cualquiera de las reivindicaciones 48, 52-53, en donde se reduce la distrofia neurítica en el paciente.

15 63. El método de cualquiera de las reivindicaciones 48, 52-53, en donde se conserva la densidad sináptica y/o dendrítica.

64. El método de cualquiera de las reivindicaciones 48, 52-53, en donde el método conserva la
20 sinaptofisina y/o MAP2 en el paciente.

RESUMEN

La presente solicitud describe los anticuerpos 9E4 humanizados. Los anticuerpos se unen a la alfa sinucleína humana y pueden utilizarse para la inmunoterapia de la
5 enfermedad de cuerpos de Lewy.

Fig. 1**9E4 VH alignment**

Kabat																					
Numbering	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
m9E4VH	E	V	K	L	V	E	S	G	G	G	L	V	K	P	G	A	S	L	K	L	
1791009	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L	
Hu9E4VHv1	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L	
Hu9E4VHv2	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L	
Hu9E4VHv3	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L	
Hu9E4VHv4	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L	
Kabat																					
Numbering	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	
m9E4VH	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	N	Y	G	M	S	W	V	R	Q	T	
1791009	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	S	Y	W	M	S	W	V	R	Q	A	
Hu9E4VHv1	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	N	Y	G	M	S	W	V	R	Q	A	
Hu9E4VHv2	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	N	Y	G	M	S	W	V	R	Q	A	
Hu9E4VHv3	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	N	Y	G	M	S	W	V	R	Q	A	
Hu9E4VHv4	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	N	Y	G	M	S	W	V	R	Q	A	
Kabat																					
Numbering	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	52A	53	54	55	56	57	58	59	
m9E4VH	S	D	K	R	L	E	W	V	A	S	I	S	S	G	G	G	S	T	Y	Y	
1791009	P	G	K	G	L	E	W	V	A	N	I	K	Q	D	G	S	E	K	Y	Y	
Hu9E4VHv1	P	G	K	G	L	E	W	V	A	S	I	S	S	G	G	G	S	T	Y	Y	
Hu9E4VHv2	P	G	K	G	L	E	W	V	A	S	I	S	S	G	G	G	S	T	Y	Y	
Hu9E4VHv3	P	G	K	G	L	E	W	V	A	S	I	S	S	G	G	G	S	T	Y	Y	
Hu9E4VHv4	P	G	K	G	L	E	W	V	A	S	I	S	S	G	G	G	S	T	Y	Y	

Fig. 2

		9E4 VL alignment																			
Kabat																					
Numbering	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
m9E4VL	D	I	V	M	S	Q	S	P	S	S	L	A	V	S	V	G	E	K	V	T	
63102889	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	
Hu9E4VLv1	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	
Hu9E4VLv2	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	
Hu9E4VLv3	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	
Kabat																					
Numbering	21	22	23	24	25	26	27	27A	27B	27C	27D	27E	27F	28	29	30	31	32	33	34	
m9E4VL	M	S	C	K	S	I	Q	T	L	L	Y	S	S	N	Q	K	N	Y	L	A	
63102889	I	T	C	R	A	S	Q	-	-	-	-	-	-	S	I	S	S	Y	L	N	
Hu9E4VLv1	I	T	C	K	S	I	Q	T	L	L	Y	S	S	N	Q	K	N	Y	L	A	
Hu9E4VLv2	I	T	C	K	S	I	Q	T	L	L	Y	S	S	N	Q	K	N	Y	L	A	
Hu9E4VLv3	I	T	C	K	S	I	Q	T	L	L	Y	S	S	N	Q	K	N	Y	L	A	
Kabat																					
Numbering	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	
m9E4VL	W	F	Q	Q	K	P	G	Q	S	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	I	R	
63102889	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	A	A	S	S	L	
Hu9E4VLv1	W	F	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	I	R	
Hu9E4VLv2	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	I	R	
Hu9E4VLv3	W	F	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	I	R	

9E4 VL alignment

Kabat Numbering	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74
m9E4VL	K	S	G	V	P	D	R	F	T	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T
63102889	Q	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T
Hu9E4VLv1	K	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T
Hu9E4VLv2	K	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T
Hu9E4VLv3	K	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T

Kabat	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94
Numbering	I	S	S	S	V	K	A	E	D	L	A	V	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y
m9E4VL	I	S	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	C	Q	Q	S	Y	S	T
63102889	I	S	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y
Hu9E4VLv1	I	S	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y
Hu9E4VLv2	I	S	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y
Hu9E4VLv3	I	S	S	S	L	Q	P	E	D	L	A	T	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y

Kabat	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107
Numbering	P	L	T	F	G	A	G	T	K	L	E	L	K
m9E4VL	P	L	T	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K
63102889	P	L	T	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K
Hu9E4VLv1	P	L	T	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K
Hu9E4VLv2	P	L	T	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K
Hu9E4VLv3	P	L	T	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K

Fig. 3

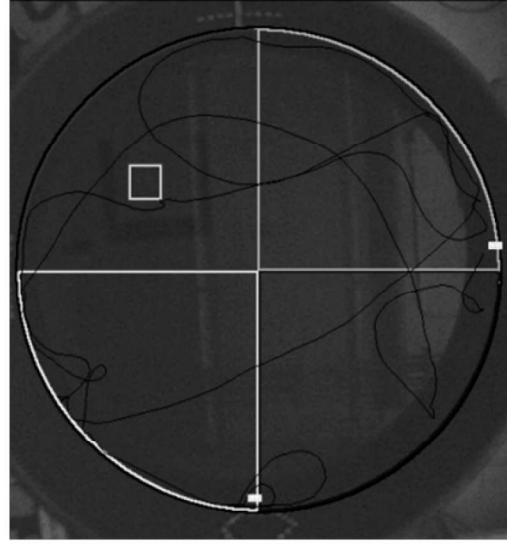
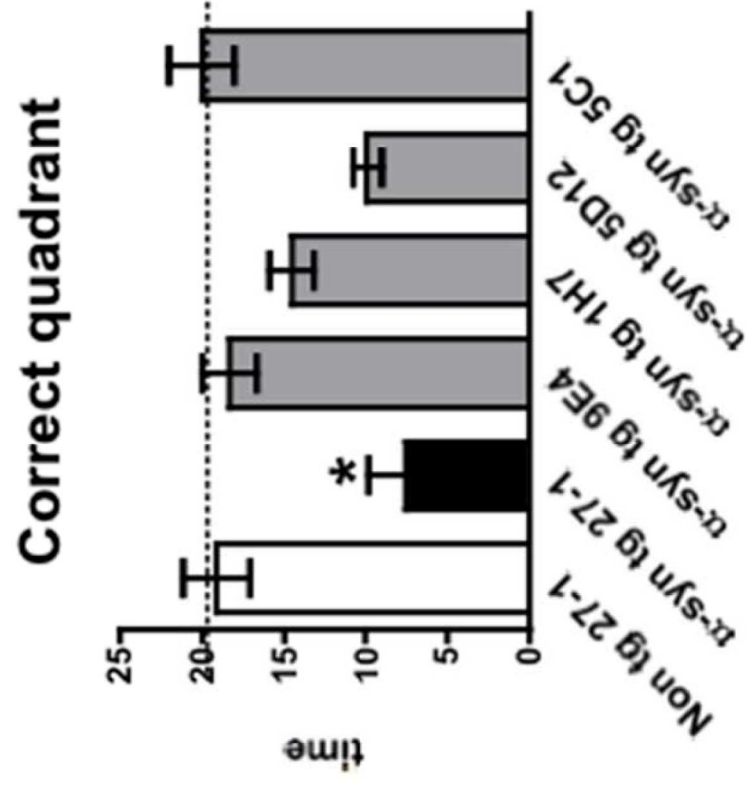


Fig. 4

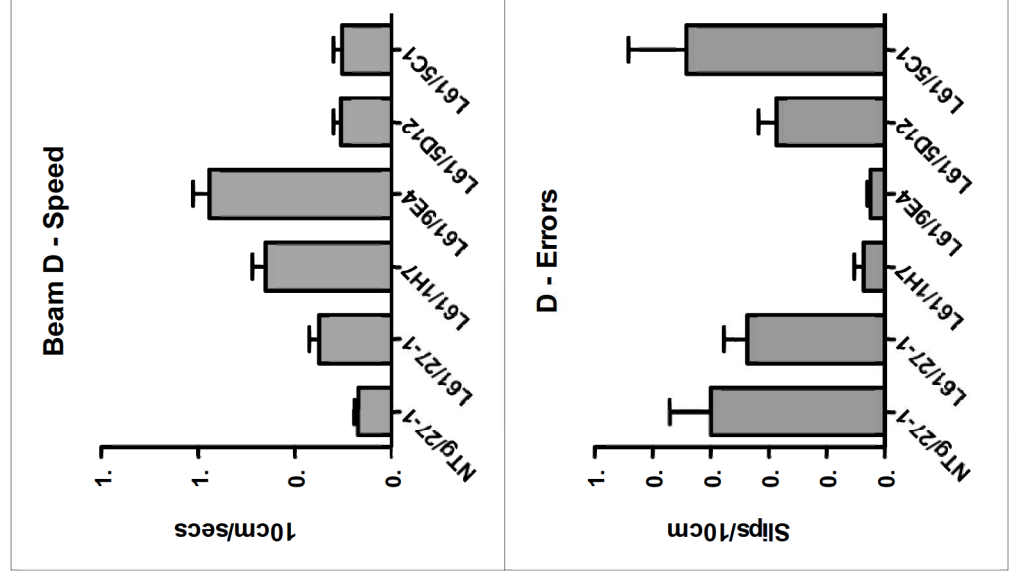


Fig. 5

7/8

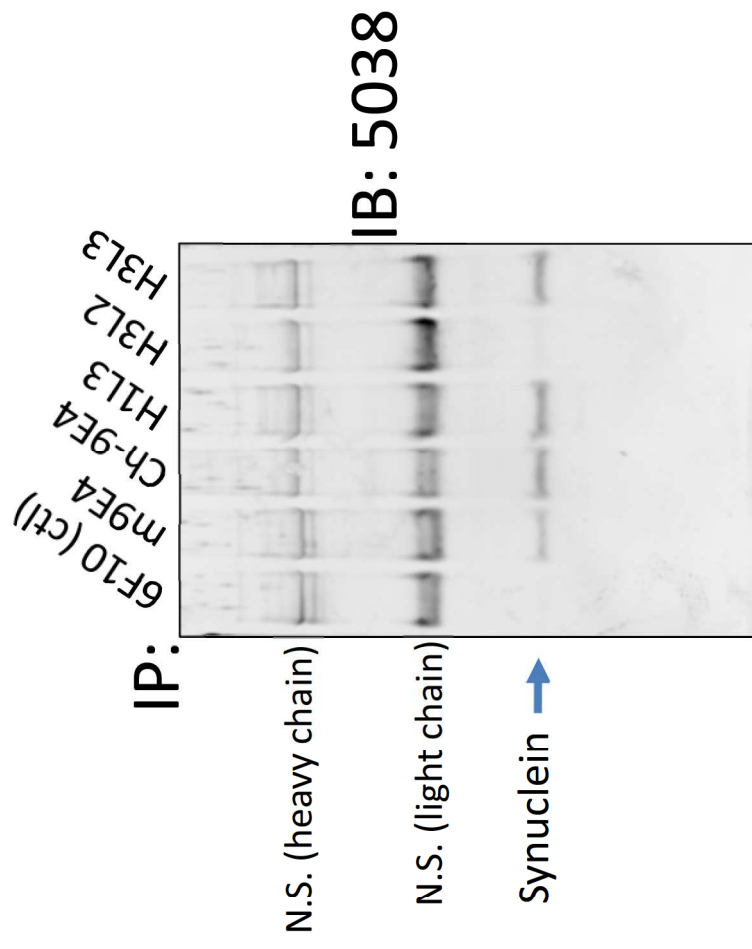


Fig. 6

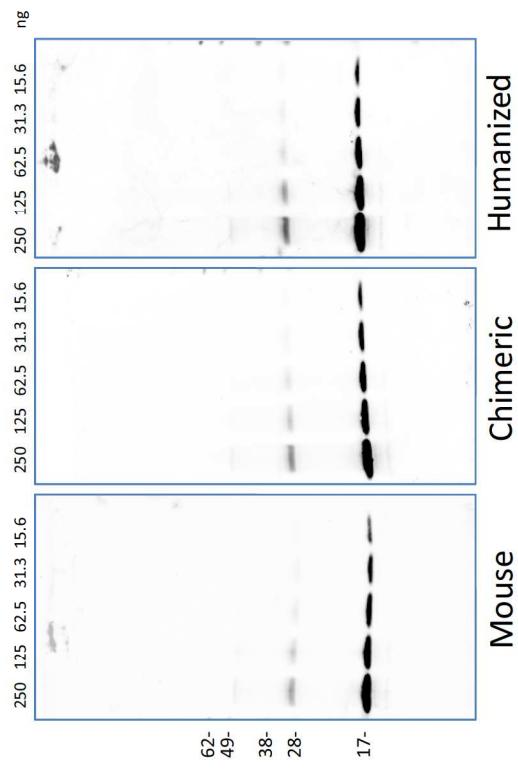


Fig. 1

		Alineación de VH 9E4																			
Numeración de Kabat		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
m9E4VH	E	V	V	K	L	V	E	S	G	G	G	L	V	K	P	G	A	S	L	K	L
1791009	E	V	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L
Hu9E4VHv1	E	V	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L
Hu9E4VHv2	E	V	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L
Hu9E4VHv3	E	V	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L
Hu9E4VHv4	E	V	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L

Numeración de Kabat		21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
m9E4VH	S	C	A	A	A	S	G	F	T	F	S	N	Y	G	M	S	W	V	R	Q	T
1791009	S	C	A	A	A	S	G	F	T	F	S	S	Y	W	M	S	W	V	R	Q	A
Hu9E4VHv1	S	C	A	A	A	S	G	F	T	F	S	N	Y	G	M	S	W	V	R	Q	A
Hu9E4VHv2	S	C	A	A	A	S	G	F	T	F	S	N	Y	G	M	S	W	V	R	Q	A
Hu9E4VHv3	S	C	A	A	A	S	G	F	T	F	S	N	Y	G	M	S	W	V	R	Q	A
Hu9E4VHv4	S	C	A	A	A	S	G	F	T	F	S	N	Y	G	M	S	W	V	R	Q	A

Numeración de Kabat		41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	52A	53	54	55	56	57	58	59
m9E4VH	S	D	K	R	R	L	E	W	V	A	S	I	S	S	G	G	G	S	T	Y	Y
1791009	P	G	K	G	G	L	E	W	V	A	N	I	K	Q	D	G	S	E	K	Y	Y
Hu9E4VHv1	P	G	K	G	G	L	E	W	V	A	S	I	S	S	G	G	G	S	T	Y	Y
Hu9E4VHv2	P	G	K	G	G	L	E	W	V	A	S	I	S	S	G	G	G	S	T	Y	Y
Hu9E4VHv3	P	G	K	G	G	L	E	W	V	A	S	I	S	S	G	G	G	S	T	Y	Y
Hu9E4VHv4	P	G	K	G	G	L	E	W	V	A	S	I	S	S	G	G	G	S	T	Y	Y

Fig. 1 (cont.)

Alineación de VH 9E4

Numeración de Kabat m9E4VH 1791009 Hu9E4VHv1 Hu9E4VHv2 Hu9E4VHv3 Hu9E4VHv4	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79
	P	D	N	V	K	G	R	F	T	I	S	R	E	D	A	K	N	T	L	Y
	V	D	S	V	K	G	R	F	T	I	S	R	D	N	A	K	N	S	L	Y
	P	D	N	V	K	G	R	F	T	I	S	R	D	D	A	K	N	S	L	Y
	P	D	N	V	K	G	R	F	T	I	S	R	D	N	A	K	N	S	L	Y
	P	D	N	V	K	G	R	F	T	I	S	R	D	D	A	K	N	S	L	Y
Numeración de Kabat m1H7VH 1791009 Hu9E4VHv1 Hu9E4VHv2 Hu9E4VHv3 Hu9E4VHv4	80	81	82	82A	82B	82C	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96
	L	Q	M	S	S	L	R	S	E	D	T	A	L	Y	Y	C	S	R	G	G
	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	G	S
	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	S	R	G	G
	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	S	R	G	G
	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	G	G
Numeración de Kabat m9E4VH 1791009 Hu9E4VHv1 Hu9E4VHv2 Hu9E4VHv3 Hu9E4VHv4	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114		
	A	G	I	-	D	Y	W	G	Q	G	T	T	L	T	V	S	S	-		
	S	D	M	-	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	-		
	A	G	I	-	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	-		
	A	G	I	-	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	-		
	A	G	I	-	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	-		

Fig. 2

		Alineación de VL 9E4																			
Numeración de Kabat		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
m9E4VL	D	I	V	M	S	S	Q	S	P	S	S	L	A	V	S	V	G	E	K	V	T
63102889	D	I	Q	M	T	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T
Hu9E4VLv1	D	I	Q	M	T	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T
Hu9E4VLv2	D	I	Q	M	T	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T
Hu9E4VLv3	D	I	Q	M	T	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T

Numeración de Kabat		21	22	23	24	25	26	27	27A	27B	27C	27D	27E	27F	28	29	30	31	32	33	34
m9E4VL	M	S	C	C	K	S	I	Q	T	L	L	Y	S	S	N	Q	K	N	Y	L	A
63102889	I	T	C	C	R	A	S	Q	-	-	-	-	-	-	S	I	S	S	Y	L	N
Hu9E4VLv1	I	T	C	C	K	S	I	Q	T	L	L	Y	S	S	N	Q	K	N	Y	L	A
Hu9E4VLv2	I	T	C	C	K	S	I	Q	T	L	L	Y	S	S	N	Q	K	N	Y	L	A
Hu9E4VLv3	I	T	C	C	K	S	I	Q	T	L	L	Y	S	S	N	Q	K	N	Y	L	A

Numeración de Kabat		35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54
m9E4VL	W	F	Q	Q	Q	K	P	G	Q	S	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	I	R
63102889	W	Y	Q	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	A	A	S	S	L
Hu9E4VLv1	W	F	Q	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	I	R
Hu9E4VLv2	W	Y	Q	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	I	R
Hu9E4VLv3	W	F	Q	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	I	R

Fig. 2 (cont.)

Alineación de VL 94E

Numeración de Kabat	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74
m9E4VL	K	S	G	V	P	D	R	F	T	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T
63102889	Q	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T
Hu9E4VLv1	K	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T
Hu9E4VLv2	K	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T
Hu9E4VLv3	K	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T

4/8

Numeración de Kabat	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94
m9E4VL	I	S	S	V	K	A	E	D	L	A	V	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y
63102889	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	S	Y	S	T
Hu9E4VLv1	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y
Hu9E4VLv2	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y
Hu9E4VLv3	I	S	S	L	Q	P	E	D	L	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y

Numeración de Kabat	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107
m9E4VL	P	L	T	F	G	A	G	T	K	L	E	L	K
63102889	P	L	T	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K
Hu9E4VLv1	P	L	T	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K
Hu9E4VLv2	P	L	T	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K
Hu9E4VLv3	P	L	T	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K

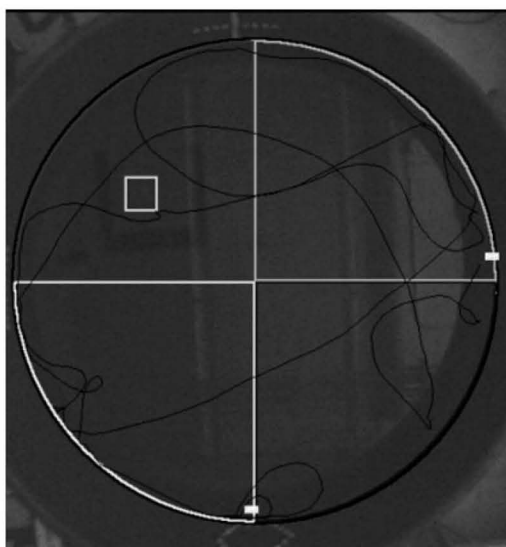
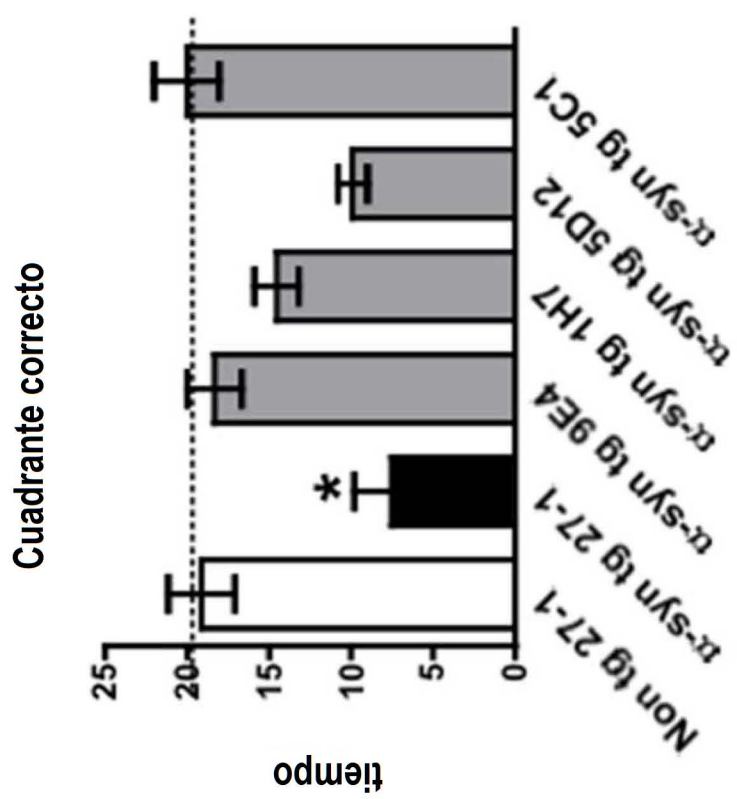


Fig. 3

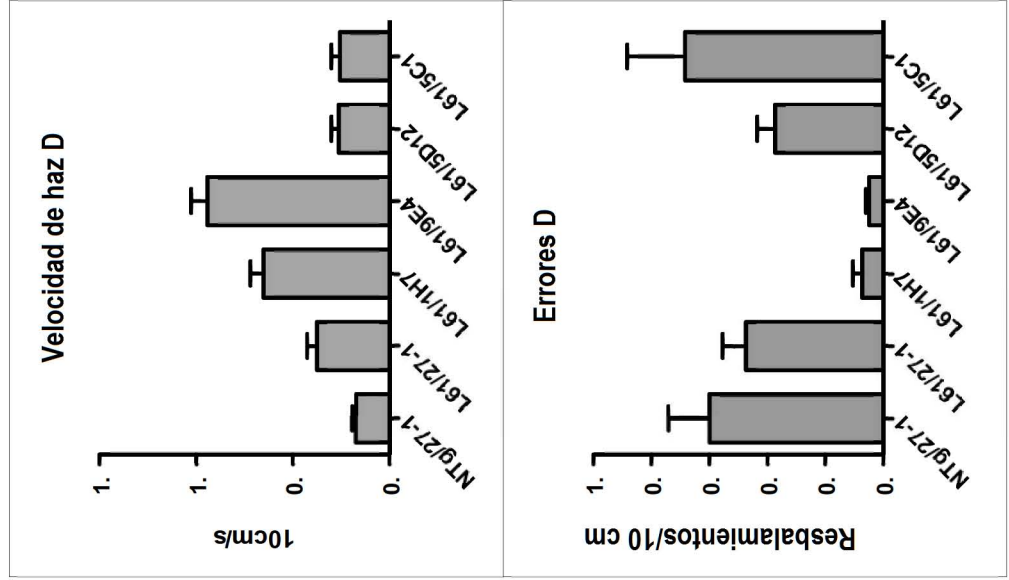


Fig. 4

Fig. 5

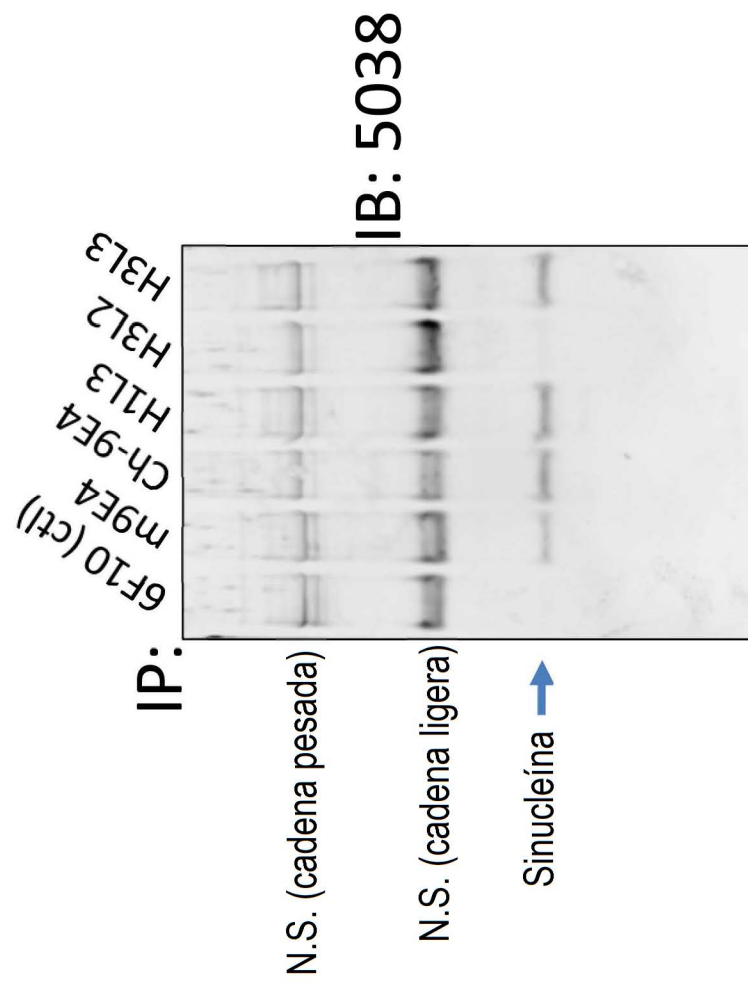
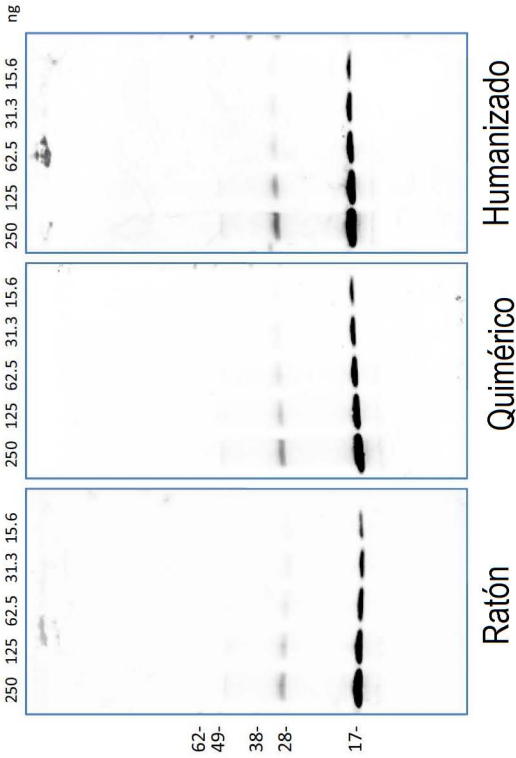


Fig. 6



LISTA DE SECUENCIAS

5 <110> Saldanha, Jose
 Nijjar, Tarlochan
 <120> ANTICUERPOS HUMANIZADOS QUE RECONOCEN LA ALFA-SINUCLEINA
 <130> 057450/424859
 10 <150> 61/553,131
 <151> 2011-10-28
 <160> 32
 15 <170> FastSEQ fo Windows Versión 4.0
 <210> 1
 <211> 113
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sintetizado
 25 <400> 1
 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 Ile Gln Thr Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30
 30 Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Ile Arg Lys Ser Gly Val
 50 55 60
 35 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 Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
 40 100 105 110
 Lys
 45 <210> 2
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50 <220>
 <223> Sintetizado

<400> 2
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 5 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 10 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105
 15

<210> 3
 <211> 113
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sintetizado
 25

<400> 3
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ile Gln Thr Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30
 30 Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 35 40 45
 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Ile Arg Lys Ser Gly Val
 50 55 60
 35 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 85 90 95
 Tyr Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110
 40 Lys

45 <210> 4
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50 <220>
 <223> Sintetizado

<400> 4
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ile Gln Thr Leu Leu Tyr Ser
 5 20 25 30
 Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 35 40 45
 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Ile Arg Lys Ser Gly Val
 50 55 60
 10 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 85 90 95
 Tyr Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 15 100 105 110
 Lys

20 <210> 5
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Sintetizado

<400> 5
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 30 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ile Gln Thr Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30
 Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 35 35 40 45
 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Ile Arg Lys Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Leu Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 40 85 90 95
 Tyr Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110
 Lys

45
 <210> 6
 <211> 116
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial
 <220>

<223> Sintetizado

<400> 6

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

20

<210> 7

<211> 116

<212> PRT

25 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sintetizado

30 <400> 7

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

<210> 8

50 <211> 116

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sintetizado

5 <400> 8

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

<210> 9

25 <211> 116

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

30 <223> Sintetizado

<400> 9

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

50

<210> 10

<211> 116

$\langle 220 \rangle$

5 <223> Sintetizado

 $\langle 400 \rangle$ 10[illegible]

25

```
<210> 11
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
```

30

<220>
<223> Sintetizado

<400> 11

[illegible]

50

<210> 12
 <211> 140
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Sintetizado

<400> 12
 10 Met Asp Val Phe Met Lys Gly Leu Ser Lys Ala Lys Glu Gly Val Val
 1 5 10 15
 Ala Ala Ala Glu Lys Thr Lys Gln Gly Val Ala Glu Ala Ala Gly Lys
 20 25 30
 Thr Lys Glu Gly Val Leu Tyr Val Gly Ser Lys Thr Lys Glu Gly Val
 15 35 40 45
 Val His Gly Val Ala Thr Val Ala Glu Lys Thr Lys Glu Gln Val Thr
 50 55 60
 Asn Val Gly Gly Ala Val Val Thr Gly Val Thr Ala Val Ala Gln Lys
 65 70 75 80
 20 Thr Val Glu Gly Ala Gly Ser Ile Ala Ala Ala Thr Gly Phe Val Lys
 85 90 95
 Lys Asp Gln Leu Gly Lys Asn Glu Glu Gly Ala Pro Gln Glu Gly Ile
 100 105 110
 Leu Glu Asp Met Pro Val Asp Pro Asp Asn Glu Ala Tyr Glu Met Pro
 25 115 120 125
 Ser Glu Glu Gly Tyr Gln Asp Tyr Glu Pro Glu Ala
 130 135 140

30

<210> 13
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35

<220>
 <223> Sintetizado

<400> 13
 40 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45
 45 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 65 70 75 80
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95
 50 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105

<210> 14
 <211> 330
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sintetizado
 10
 <400> 14
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 15 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 20 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 25 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 30 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Val Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 35 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 40 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 45 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 50 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

330

5 <210> 15
 <211> 339
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 10 <223> Sintetizado

 <400> 15
 gacatccaga tgacccagtc cccctcctcc ctgtccgcct ccgtgggcca ccgcgtgacc 60
 atcacctgca agtccatcca gaccctgctg tactcctcca accagaagaa ctacctggcc 120
 15 tggttccagc agaagcccg caaggccccc aagctgctga tctactgggc ctccatccgc 180
 aagtccggcg tgcctcccg cttctccggc tccggctccg gcaccgactt caccctgacc 240
 atctcctccc tgcagcccga ggacttcgcc acctactact gccagcagta ctactcctac 300
 cccctgacct tcggcggcg caccaagctg gagatcaag 339

 20 <210> 16
 <211> 339
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 25 <223> Sintetizado

 <400> 16
 gacatccaga tgacccagtc cccctcctcc ctgtccgcct ccgtgggcca ccgcgtgacc 60
 30 atcacctgca agtccatcca gaccctgctg tactcctcca accagaagaa ctacctggcc 120
 tggttaccagc agaagcccg caaggccccc aagctgctga tctactgggc ctccatccgc 180
 aagtccggcg tgcctcccg cttctccggc tccggctccg gcaccgactt caccctgacc 240
 atctcctccc tgcagcccga ggacttcgcc acctactact gccagcagta ctactcctac 300
 cccctgacct tcggcggcg caccaagctg gagatcaag 339

 35 <210> 17
 <211> 339
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Sintetizado

 <400> 17
 45 gacatccaga tgacccagtc cccctcctcc ctgtccgcct ccgtgggcca ccgcgtgacc 60
 atcacctgca agtccatcca gaccctgctg tactcctcca accagaagaa ctacctggcc 120
 tggttccagc agaagcccg caaggccccc aagctgctga tctactgggc ctccatccgc 180
 aagtccggcg tgcctcccg cttctccggc tccggctccg gcaccgactt caccctgacc 240
 atctcctccc tgcagcccga ggacctggcc acctactact gccagcagta ctactcctac 300
 50 cccctgacct tcggcggcg caccaagctg gagatcaag 339

 <210> 18

<211> 348
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Sintetizado

<400> 18
 gaggtgcagc tgggtggagtc cggcgggcggc ctggtgcagc cggcgggctc cctgcgccctg 60
 10 tcttgcgccg cctccggctt caccttctcc aactacggca tgtcctgggt gcgccaggcc 120
 cccggcaagg gcctggagtg ggtggcctcc atctcctccg gcggcggtc cacctactac 180
 cccgacaacg tgaagggccg cttcaccatc tcccgcgacg acgccaagaa ctccctgtac 240
 ctgcagatga actccctgcg cgccgaggac accgccgtgt actactgctc ccgcgggcggc 300
 gccggcatcg actactgggg ccagggcacc ctggtgaccg tgtcctcc 348

15 <210> 19
 <211> 348
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Sintetizado

<400> 19
 25 gaggtgcagc tgggtggagtc cggcgggcggc ctggtgcagc cggcgggctc cctgcgccctg 60
 tcttgcgccg cctccggctt caccttctcc aactacggca tgtcctgggt gcgccaggcc 120
 cccggcaagg gcctggagtg ggtggcctcc atctcctccg gcggcggtc cacctactac 180
 cccgacaacg tgaagggccg cttcaccatc tcccgcgaca acgccaagaa ctccctgtac 240
 ctgcagatga actccctgcg cgccgaggac accgccgtgt actactgctc ccgcgggcggc 300
 30 gccggcatcg actactgggg ccagggcacc ctggtgaccg tgtcctcc 348

<210> 20
 <211> 348
 <212> ADN

35 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sintetizado

40 <400> 20
 gaggtgcagc tgggtggagtc cggcgggcggc ctggtgcagc cggcgggctc cctgcgccctg 60
 tcttgcgccg cctccggctt caccttctcc aactacggca tgtcctgggt gcgccaggcc 120
 cccggcaagg gcctggagtg ggtggcctcc atctcctccg gcggcggtc cacctactac 180
 cccgacaacg tgaagggccg cttcaccatc tcccgcgacg acgccaagaa ctccctgtac 240
 45 ctgcagatga actccctgcg cgccgaggac accgccgtgt actactgctc ccgcgggcggc 300
 gccggcatcg actactgggg ccagggcacc ctggtgaccg tgtcctcc 348

<210> 21
 <211> 348
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sintetizado

<400> 21

5 gaggtgcagc tggtaggagtc cggcgggcggc ctggtgcagc cggcgggctc cctgcgcctg 60
 tcctgcgccg cctccggctt caccttctcc aactacggca tgcctgggt gcgccaggcc 120
 cccggcaagg gcctggagtg ggtggcctcc atctcctccg gcggcggtc cacctactac 180
 cccgacaacg tgaagggccg cttcaccatc tcccgcgaca acgccaagaa ctccctgtac 240
 ctgcagatga actccctgcg cgcgaggac accgccgtgt actactgcgc ccgcgggcggc 300
 10 gccggcatcg actactgggg ccagggcacc ctggtgaccg tgcctcc 348

<210> 22

<211> 22

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sintetizado

20 <400> 22

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp
 1 5 10 15
 Val Ser Gly Ser Ser Gly
 20

25

<210> 23

<211> 66

<212> ADN

30 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sintetizado

35 <400> 23

atggacatgc gcgtgcccgc ccagctgctg ggctgctga tgctgtgggt gtccggctcc 60
 tccggc 66

<210> 24

40 <211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

45 <223> Sintetizado

<400> 24

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15
 50 Val Gln Cys

<210> 25
 <211> 57
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sintetizado

 10 <400> 25
 atggagttcg gcctgtcctg gctgttcctg gtggccatcc tgaagggcgt gcagtgc 57

 <210> 26
 <211> 113
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sintetizado

 20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 42
 <223> Xaa = Y o F

 25 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 89
 <223> Xaa = F o L

 30 <400> 26
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ile Gln Thr Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30
 35 Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Xaa Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 35 40 45
 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Ile Arg Lys Ser Gly Val
 50 55 60
 40 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Xaa Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 85 90 95
 Tyr Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110
 45 Lys

 50 <210> 27
 <211> 116
 <212> PRT

```

<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sintetizado
5
<220>
<221> VARIANTE
<222> 74
<223> Xaa = N o D
10
<220>
<221> VARIANTE
<222> 97
<223> Xaa = A o S
15
<400> 27
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1          5          10          15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20          20          25          30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
          35          40          45
Ala Ser Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Asn Val
          50          55          60
25 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Xaa Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65          70          75          80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
          85          90          95
Xaa Arg Gly Gly Ala Gly Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
30          100          105          110
Thr Val Ser Ser
          115

35 <210> 28
<211> 106
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Sintetizado

<400> 28
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
45 1          5          10          15
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
          20          25          30
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
          35          40          45
50 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50          55          60
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

```

	65				70					75					80	
	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro
					85					90					95	
	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys						
5				100					105							

10	<210>	29
	<211>	220
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia Artificial
	<220>	
	<223>	Sintetizado

15	<400>	29														
	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
	1				5					10					15	
	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ser	Ile	Gln	Thr	Leu	Leu	Tyr	Ser
20				20					25					30		
	Ser	Asn	Gln	Lys	Asn	Tyr	Leu	Ala	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys
			35					40					45			
	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Trp	Ala	Ser	Ile	Arg	Lys	Ser	Gly	Val
	50					55						60				
25	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr
	65					70					75				80	
	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Leu	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln
					85					90					95	
	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile
30				100					105					110		
	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp
			115					120					125			
	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn
	130					135						140				
35	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu
	145					150					155				160	
	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp
				165						170					175	
	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr
40				180					185					190		
	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser
			195					200					205			
	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys				
		210					215					220				

45	<210>	30
	<211>	219
	<212>	PRT
50	<213>	Secuencia Artificial
	<220>	

<223> Sintetizado

<400> 30

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

<210> 31

35 <211> 446

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

40 <223> Sintetizado

<400> 31

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

5	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85					90					95	
	Ala	Arg	Gly	Gly	Ala	Gly	Ile	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
				100					105					110		
10	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
			115					120					125			
	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
		130					135				140					
15	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
	145					150					155					160
	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
					165				170						175	
20	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
				180					185					190		
	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
			195				200					205				
25	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
		210					215					220				
	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
	225					230					235					240
30	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
					245					250					255	
	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
				260				265					270			
35	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Val	Lys	Thr
			275				280						285			
	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
		290					295					300				
40	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
	305					310					315					320
	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
				325						330					335	
45	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
				340					345					350		
	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
			355				360						365			
50	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
		370					375					380				
	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
	385					390					395					400
55	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
					405					410					415	
	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His

<220>

<223> Sintetizado

5 <400> 32
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

10 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

15 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

20 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

25 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

30 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

35 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

40 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

45 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

ADVANCE E-MAIL CORRECTED VERSION PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

LIEBESCHUETZ, Joe
Alston & Bird LLP
Bank of America Plaza
101 South Tryon Street, Suite 4000
Charlotte, North Carolina 28280-4000
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 08 October 2013 (08.10.2013)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 57450-424859	
International application No. PCT/US2012/062290	International filing date (day/month/year) 26 October 2012 (26.10.2012)

1. The following indications appeared on record concerning:		
☒ the applicant	☐ the inventor	☐ the agent
☐ the common representative		
Name and Address NEOTOPE BIOSCIENCES LIMITED Treasury Building, Lower Grand Canal Street, Dublin, 2 Ireland	State of Nationality IE	State of Residence IE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
☐ the person	☐ the name	☒ the address
☐ the nationality		
☐ the residence		
Name and Address NEOTOPE BIOSCIENCES LIMITED 25-28 North Wall Quay Dublin 1 Ireland	State of Nationality IE	State of Residence IE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	
3. Further observations, if necessary:		
4. A copy of this notification has been sent to:		
☒ the receiving Office	☐ the International Preliminary Examining Authority	
☐ the International Searching Authority	☒ the designated Offices concerned	
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search	☐ the elected Offices concerned	
	☐ other:	

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Cruz Juan
Facsimile No. +41 22 338 70 90	e-mail pt01.pct@wipo.int
	Telephone No. +41 22 338 74 01

ADVANCE E-MAIL

From the INTERNATIONAL BUREAU

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

To:

LIEBESCHUETZ, Joe
Alston & Bird LLP
Bank of America Plaza
101 South Tryon Street, Suite 4000
Charlotte, North Carolina 28280-4000
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 12 May 2014 (12.05.2014)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 57450-424859	
International application No. PCT/US2012/062290	International filing date (day/month/year) 26 October 2012 (26.10.2012)

1. The following indications appeared on record concerning:		
☒ the applicant	☒ the inventor	☐ the agent
☐ the common representative		
Name and Address	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
☐ the person	☐ the name	☐ the address
☐ the nationality		
☐ the residence		
Name and Address SALDANHA, Jose 21 Fillebrook Avenue Enfield Middlesex EN1 3BD United Kingdom	State of Nationality GB	State of Residence US
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	
3. Further observations, if necessary: The person identified in Box 2 has been recorded as applicant for US only and inventor for all designated States.		
4. A copy of this notification has been sent to:		
☒ the receiving Office	☐ the International Preliminary Examining Authority	
☐ the International Searching Authority	☒ the designated Offices concerned	
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search	☐ the elected Offices concerned	
	☐ other:	

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Reyes Rosana e-mail ept.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 78 78
Facsimile No. +41 22 338 80 40	

ADVANCE E-MAIL

From the INTERNATIONAL BUREAU

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

To:

LIEBESCHUETZ, Joe
Alston & Bird LLP
Bank of America Plaza
101 South Tryon Street, Suite 4000
Charlotte, North Carolina 28280-4000
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 12 May 2014 (12.05.2014)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 57450-424859	
International application No. PCT/US2012/062290	International filing date (day/month/year) 26 October 2012 (26.10.2012)

1. The following indications appeared on record concerning:		
☒ the applicant	☒ the inventor	☐ the agent
☐ the common representative		
Name and Address	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
☐ the person	☐ the name	☐ the address
☐ the nationality		
☐ the residence		
Name and Address NIJJAR, Tarlochan S. 712 Ironbark Court Orinda, California 94563 United States of America	State of Nationality US	State of Residence US
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	
3. Further observations, if necessary: The person identified in Box 2 has been recorded as applicant for US only and inventor for all designated States.		
4. A copy of this notification has been sent to:		
☒ the receiving Office	☐ the International Preliminary Examining Authority	
☐ the International Searching Authority	☒ the designated Offices concerned	
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search	☐ the elected Offices concerned	
	☐ other:	

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. +41 22 338 80 40	Authorized officer Reyes Rosana e-mail ept.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 78 78
---	--



UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

UNDER SECRETARY OF COMMERCE FOR INTELLECTUAL PROPERTY AND
DIRECTOR OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

OCTOBER 12, 2012

PTAS

ROSEMARIE L. CELLI
ALSTON + BIRD LLP
101 SOUTH TRYON STREET, SUITE 4000
CHARLOTTE, NC 28280-4000

502091727

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE NOTICE OF RECORDATION OF ASSIGNMENT DOCUMENT

THE ENCLOSED DOCUMENT HAS BEEN RECORDED BY THE ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH OF THE U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE. A COMPLETE COPY IS AVAILABLE AT THE ASSIGNMENT SEARCH ROOM ON THE REEL AND FRAME NUMBER REFERENCED BELOW.

PLEASE REVIEW ALL INFORMATION CONTAINED ON THIS NOTICE. THE INFORMATION CONTAINED ON THIS RECORDATION NOTICE REFLECTS THE DATA PRESENT IN THE PATENT AND TRADEMARK ASSIGNMENT SYSTEM. IF YOU SHOULD FIND ANY ERRORS OR HAVE QUESTIONS CONCERNING THIS NOTICE, YOU MAY CONTACT THE ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH AT 571-272-3350. PLEASE SEND REQUEST FOR CORRECTION TO: U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE, MAIL STOP: ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH, P.O. BOX 1450, ALEXANDRIA, VA 22313.

RECORDATION DATE: 10/11/2012

REEL/FRAME: 029113/0749
NUMBER OF PAGES: 4

BRIEF: ASSIGNMENT OF ASSIGNORS INTEREST (SEE DOCUMENT FOR DETAILS).

DOCKET NUMBER: 057450-395382

ASSIGNOR:

NIJJAR, TARLOCHAN S.

DOC DATE: 10/03/2012

ASSIGNEE:

ELAN PHARMACEUTICALS, INC.
180 OYSTER POINT BOULEVARD
SOUTH SAN FRANCISCO, CALIFORNIA
94080

APPLICATION NUMBER: 61553131

FILING DATE: 10/28/2011

PATENT NUMBER:

ISSUE DATE:

TITLE: HUMANIZED ANTIBODIES THAT RECOGNIZE ALPHA-SYNUCLEIN

ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH
PUBLIC RECORDS DIVISION

ASSIGNMENT

WHEREAS Tarlochan S. Nijjar, a citizen of the United States, residing at 34 Owl Hill Road, Orinda, CA 94563 hereinafter referred to as "Assignor," is an inventor of the invention described and set forth in the below-identified patent application:

Title of Invention: HUMANIZED ANTIBODIES THAT RECOGNIZE
ALPHA-SYNUCLEIN

US Application No.: 61/553,131

Filing Date: October 28, 2011

WHEREAS, Elan Pharmaceuticals, Inc., a corporation duly organized under and pursuant to the laws of the state of Delaware, and having a principal place of business at 180 Oyster Point Boulevard, South San Francisco, CA 94080, hereinafter referred to as "Assignee," is desirous of acquiring Assignor's right, title and interest in and to the above-mentioned invention and application, the right to file applications on said invention, and the right, title and interest in and to any applications, including provisional applications, on said invention for Letters Patent of the United States or other countries, and any applications claiming priority to said applications, and in and to any Letters Patent or Patents of any country, to be obtained therefor and thereon;

NOW, THEREFORE, for good and valuable consideration, receipt of which is hereby acknowledged by Assignor, Assignor has assigned, transferred and set over, and by these presents does assign, transfer and set over unto Assignee, and Assignee's successors, legal representatives, and assigns, all of Assignor's right, title and interest in and to the above-mentioned invention and application, the right to file applications on said invention, and the right, title and interest in and to any such applications, including provisional applications, and any applications claiming priority from said applications for Letters Patent of the United States or other countries (including patent, utility model and industrial designs), and in and to any Letters Patent or Patents of the United States of America and all foreign countries that have been or may be granted therefor and thereon, and in and to any and all divisions, renewals, substitutions, conversions, continuations, and continuations-in-part of said applications, and reissues, prolongations and extensions of said Letters Patent or Patents, and all rights under the Paris Convention for the Protection of Industrial Property, including the right to claim priority, the same to be held and enjoyed by Assignee, for its own use and behalf and the use and behalf of Assignee's successors, legal representatives, and assigns, to the full end of the term or terms for which Letters Patent or Patents may be granted as fully and entirely as the same would have been held and enjoyed by Assignor had this Assignment not been made;

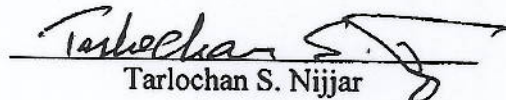
AND for the same consideration, Assignor hereby covenants and agrees to and with Assignee, its successors, legal representatives, and assigns, that Assignor shall, whenever counsel of Assignee, or the counsel of its successors, legal representatives, and assigns, advises that any proceeding in connection with said invention or said applications for Letters Patent or Patents, or any proceeding in connection with Letters Patent or Patents for said invention in any country, including interference proceedings, is lawful and desirable, or that any application

claiming priority to said application, division, continuation, continuation-in-part, substitution or conversion of any applications for Letters Patent or Patents, or any reissue, prolongation or extension of any Letters Patent or Patents to be obtained thereon, is lawful and desirable, sign all papers and documents, take all lawful oaths, and do all acts necessary or required to be done for the procurement, maintenance, enforcement and defense of Letters Patent or Patents for said invention, without charge to Assignee, its successors, legal representatives, and assigns, but at the cost and expense of Assignee, its successors, legal representatives, and assigns;

AND Assignor hereby requests the Commissioner of Patents to issue any and all said Letters Patent or Patents of the United States to Assignee as the assignee of said invention and the Letters Patent or Patents issued and to be issued thereon for the use and behalf of Assignee, its successors, legal representatives, and assigns.

IN TESTIMONY WHEREOF, Assignor has signed his names on the date indicated.

Dated: 10/3/12

Tarlochan S. Nijjar  JS
Tarlochan S. Nijjar

EXECUTE IN THE PRESENCE OF A NOTARY

CALIFORNIA ALL-PURPOSE ACKNOWLEDGMENT

CIVIL CODE § 1180

State of California

County of SAN MATEO

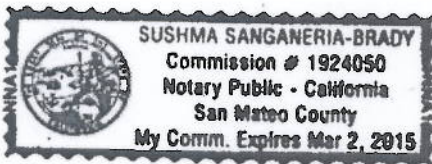
On 10/3/12 before me, SUSHMA SANGANERIA - BRADY
Date Here Insert Name and Title of the Officer

personally appeared ARLOCHAN S. NIJJAR
Name(s) of Signer(s)

who proved to me on the basis of satisfactory evidence to be the person(s) whose name(s) is/are subscribed to the within instrument and acknowledged to me that he/she/they executed the same in his/her/their authorized capacity(ies), and that by his/her/their signature(s) on the instrument the person(s), or the entity upon behalf of which the person(s) acted, executed the instrument.

I certify under PENALTY OF PERJURY under the laws of the State of California that the foregoing paragraph is true and correct.

WITNESS my hand and official seal.



Place Notary Seal Above

Signature: Sushma Sanganeria-Brady
Signature of Notary Public

OPTIONAL

Though the information below is not required by law, it may prove valuable to persons relying on the document and could prevent fraudulent removal and reattachment of this form to another document.

Description of Attached Document

Title or Type of Document: ASSIGNMENT 61/553,131

Document Date: _____ Number of Pages: _____

Signer(s) Other Than Named Above: _____

Capacity(ies) Claimed by Signer(s)

Signer's Name: _____ Signer's Name: _____

☐ Corporate Officer — Title(s): _____ ☐ Corporate Officer — Title(s): _____

☐ Individual ☐ Individual

☐ Partner — ☐ Limited ☐ General ☐ Partner — ☐ Limited ☐ General

☐ Attorney in Fact ☐ Attorney in Fact

☐ Trustee ☐ Trustee

☐ Guardian or Conservator ☐ Guardian or Conservator

☐ Other: _____ ☐ Other: _____

Signer Is Representing: _____ Signer Is Representing: _____

RIGHT THUMBPRINT
OF SIGNER
Top of thumb here

RIGHT THUMBPRINT
OF SIGNER
Top of thumb here

(Sello)

Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos

Bajo la Secretaría de Comercio para la Propiedad Intelectual

Director de la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos

Octubre 12, 2012

ROSEMARIE L. CELLI

ALSTON + BIRD LLP

502091727

101 SOUTH TRYON STREET, SUITE 4000

CHARLOTTE, NC 28280-4000

OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS

AVISO DE INSCRIPCIÓN DE DOCUMENTO DE CESIÓN

EL DOCUMENTO ADJUNTO HA SIDO INSCRITO POR LA DIVISIÓN DE CESIONES DE LA OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS. UNA COPIA COMPLETA MICROFILMADA ESTÁ DISPONIBLE EN EL SALÓN DE BÚSQUEDAS DE CESIONES EN EL NÚMERO DE ROLLO Y ESTANTE INDICADOS ADELANTE.

POR FAVOR REVISE TODA LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE AVISO. LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE AVISO DE INSCRIPCIÓN REFLEJA LOS DATOS EXISTENTES EN EL SISTEMA DE CESIONES DE MARCAS Y PATENTES. SI USTED ENCUENTRA CUALQUIER ERROR O TIENE PREGUNTAS RESPECTO A ESTE AVISO, POR FAVOR CONTACTE AL EMPLEADO CUYO NOMBRE APARECE EN ESTE AVISO AL TELÉFONO 571-272-3350. POR FAVOR ENVÍE UNA SOLICITUD DE CORRECCIÓN A: OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS, CORREO: ASSIGNMENT SERVICES BRANCH, P.O. BOX 1450, ALEXANDRIA, VA 22313.

FECHA DE INSCRIPCIÓN: 10/11/2012 ROLLO/ESTANTE: 029113/0749

NÚMERO DE PÁGINAS: 4

RESUMEN: CESIÓN DE LOS INTERESES DEL CEDENTE (VER DOCUMENTO PARA LOS DETALLES).

NUMERO DE DOCUMENTO: 057450-395382

CEDENTE:

NIJJAR, TARLOCHAN S.

FECHA DOC: 10/03/2012

CESIONARIO:

ELAN PHARMACEUTICALS, INC.

108 OYSTER POINT BOULEVARD

SOUTH SAN FRANCISCO, CALIFORNIA

94080

SOLICITUD No.: 61553131

FECHA DE PRESENTACIÓN: 10/28/2011

NÚMERO DE PATENTE:

FECHA DE EMISIÓN:

TÍTULO: ANTICUERPOS HUMANIZADOS QUE RECONOCEN LA ALFA-SINUCLEINA

GERENCIA DE SERVICIOS DE CESIONES

DIVISIÓN DE REGISTROS PÚBLICOS

.....

CESIÓN

CONSIDERANDO, QUE Tarlochan S. Nijjar, ciudadano de los Estados Unidos, residente en 34 Owl Hill Road, Orinda, CA 94563, de aquí en adelante referido como el “Cedente”, es el inventor de la invención descrita y plasmada en la solicitud de patente que se menciona enseguida:

Título de la Invención: ANTICUERPOS HUMANIZADOS QUE RECONOCEN LA ALFA-SINUCLEINA

Solicitud Estadounidense No.: 61/553.131

Fecha de presentación: Octubre 28 de 2011

CONSIDERANDO QUE Elan Pharmaceuticals, Inc., una corporación debidamente organizada bajo y de acuerdo con las leyes del estado de Delaware, con oficinas principales en 180 Oyster Point Boulevard, South San Francisco, CA 94080, referida de aquí en adelante como la “Cesionaria”, está deseosa de adquirir todo el derecho, título e interés en y para la invención y solicitud mencionada del Cedente, el derecho para para presentar solicitudes para dicha invención, y el derecho, título e interés en y para cualquiera de las solicitudes, incluyendo solicitudes provisionales, en esta invención para obtener patente en los Estados Unidos o en otros países y cualesquier solicitudes de reclamación de prioridad de dichas solicitudes, y en y para cualesquier certificados de patente o Patentes en cualquier país, que se obtengan para las mismas y existentes;

AHORA POR LO TANTO, por una consideración buena y valiosa, cuya recepción es reconocida por el Cedente aquí, el Cedente, ha vendido, cedido, transferido, y entregado, y por el presente vende, cede, transfiere, y entrega a la Cesionaria, sus sucesores, representantes legales y asignados, todo el derecho, título, e

interés en y para esta invención y esta solicitud, el derecho para presentar solicitudes para dicha invención, y el derecho, título e interés en y para cualquiera de tales solicitudes, incluyendo solicitudes provisionales, y cualesquier solicitudes con reclamación de prioridad de dichas solicitudes de patente en los Estados Unidos o en otros países (incluyendo patentes, modelos de utilidad y diseños industriales), y en y para cualesquier certificados de patente o Patentes que hayan sido otorgados o puedan ser otorgados en los Estados Unidos de América y todos los países extranjeros para las mismas, y en todas las divisiones, renovaciones, sustituciones, conversiones, continuaciones, y continuaciones en parte de dichas solicitudes, y todos los títulos de patente de los Estados Unidos que hayan sido otorgados para esta, y todas la reemisiones, prolongaciones y extensiones de dichos certificados de patente o Patentes, y todos los derechos bajo el Convenio de Paris para la Protección de la Propiedad Industrial, incluyendo los derechos a reclamar prioridad, para posesión y disfrute por parte del Cesionario, para su propio uso y a su nombre y el uso y posesión de sus sucesores, representantes legales y asignados, el término o términos completos para los cuales se otorguen las patentes en la misma forma en que lo disfrutaría el Cedente si esta Cesión no se llevara a cabo;

Y, por la misma consideración, acordamos además y nos comprometemos a y con el Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados, que el Cedente, siempre que el consejo del Cesionario o de sus sucesores, representantes legales y asignados, crea que es legal y conveniente entrar en procesos relacionados con dicha invención o dichas solicitudes de Patente o Patentes, o cualquier procedimiento relacionado con certificados de Patente o Patentes para dicha invención en cualquier país, incluyendo procesos de interferencia, o que cualquier solicitud de prioridad de dicha solicitud, división, continuación, continuación en parte, sustitución o conversión de cualesquier solicitudes de Patente o Patentes, o cualquier re-emisión, prolongación o extensión de cualquier Certificado de Patente o Patentes que se obtengas para las mismas, firmar todos los papeles y

documentos, declaraciones juradas, y efectuar todos los actos necesarios o requeridos para procurar, mantener, defender y mantener vigente los Certificados de Patente o Patentes para dicha invención, sin cargos para el Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados, pero con costos y gastos a cargo del Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados,.

Y el Cedente solicita por el presente al Comisionado de Patentes otorgar cualquier y todos los títulos de Patente al Cesionario como cesionario de dicha invención y los títulos de Patente otorgados o que se vayan a otorgar para la misma para el uso y a nombre del Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados;

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, el Cedente ha firmado con su firma personal en la fecha indicada,

Fechado: 10/3/12

(Firmado)

Tarlochan S. Nijjar

FIRMADO EN PRESENCIA DE UN NOTARIO

RECONOCIMIENTO PARA TODO PROPÓSITO EN CALIFORNIA

(Sello)

Estado de California

Condado de San Mateo

El 10/3/12 ante mí, Sushma Sanganeria-Brady, Notario Público, se presentó personalmente Tarlochan S. Nijjar, quien probó ante mí con base en evidencia satisfactoria ser la persona cuyo nombre aparece en la firma en el instrumento anexo y reconoció ante mí que firmó el mismo con toda su capacidad y autorización, y que mediante su firma en este instrumento la persona o la entidad que representa ejecutó este instrumento.

Yo certifico bajo la pena de perjurio según las leyes del Estado de California que el parágrafo anterior es verdadero y correcto.

En testimonio firmo y pongo mi sello.

(Sello) SUSHMA SANGANERIA-BRADY

Comisión No. 1924050

Notario Público – California

Condado de San Mateo

Mi comisión expira el 2 de marzo de 2015.

Firma: (Firmado)

OPCIONAL

Aunque la información que sigue no es requerida por ley, puede ser valiosa a las personas relacionadas con el documento y podría impedir la remoción y adición fraudulentas de este formato en otro documento.

Descripción del documento adjunto

Título o tipo de documento: Cesión 61/553.131

Fecha del documento:

Número de páginas:

Firmante distinto del nombrado antes:

Cargo reclamado por el firmante

Nombre del Firmante:

Nombre del Firmante:

Funcionario de la Corporación

Cargo:

Funcionario de la Corporación

Cargo:

Individuo

Individuo

Socio Ltda. General

Socio Ltda. General

Apoderado

Apoderado

Fiador

Fiador

Guardián o Conservador

Guardián o Conservador

Otro:

Otro:

El Firmante representa a:

El Firmante representa a:

Huella del pulgar del firmante

Huella del pulgar del firmante



UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

UNDER SECRETARY OF COMMERCE FOR INTELLECTUAL PROPERTY AND
DIRECTOR OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

OCTOBER 24, 2012

PTAS

ROSEMARIE L. CELLI
ALSTON + BIRD LLP
101 SOUTH TRYON STREET, SUITE 4000
CHARLOTTE, NC 28280-4000

502104332

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE NOTICE OF RECORDATION OF ASSIGNMENT DOCUMENT

THE ENCLOSED DOCUMENT HAS BEEN RECORDED BY THE ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH OF THE U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE. A COMPLETE COPY IS AVAILABLE AT THE ASSIGNMENT SEARCH ROOM ON THE REEL AND FRAME NUMBER REFERENCED BELOW.

PLEASE REVIEW ALL INFORMATION CONTAINED ON THIS NOTICE. THE INFORMATION CONTAINED ON THIS RECORDATION NOTICE REFLECTS THE DATA PRESENT IN THE PATENT AND TRADEMARK ASSIGNMENT SYSTEM. IF YOU SHOULD FIND ANY ERRORS OR HAVE QUESTIONS CONCERNING THIS NOTICE, YOU MAY CONTACT THE ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH AT 571-272-3350. PLEASE SEND REQUEST FOR CORRECTION TO: U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE, MAIL STOP: ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH, P.O. BOX 1450, ALEXANDRIA, VA 22313.

RECORDATION DATE: 10/23/2012

REEL/FRAME: 029176/0530
NUMBER OF PAGES: 4

BRIEF: ASSIGNMENT OF ASSIGNORS INTEREST (SEE DOCUMENT FOR DETAILS).

DOCKET NUMBER: 057450-412615

ASSIGNOR:
NIJJAR, TARLOCHAN S.

DOC DATE: 10/22/2012

ASSIGNEE:
ELAN PHARMACEUTICALS, INC.
108 OYSTER POINT BOULEVARD
SOUTH SAN FRANCISCO, CALIFORNIA
94080

APPLICATION NUMBER: 61711208
PATENT NUMBER:

FILING DATE:
ISSUE DATE:

TITLE: HUMANIZED ANTIBODIES THAT RECOGNIZE ALPHA-SYNUCLEIN

ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH
PUBLIC RECORDS DIVISION

PATENT ASSIGNMENT

Electronic Version v1.1
 Stylesheet Version v1.1

SUBMISSION TYPE:	NEW ASSIGNMENT
NATURE OF CONVEYANCE:	ASSIGNMENT
CONVEYING PARTY DATA	
Name	Execution Date
Tarlochan S. Nijjar	10/22/2012
RECEIVING PARTY DATA	
Name:	Elan Pharmaceuticals, Inc.
Street Address:	108 Oyster Point Boulevard
City:	South San Francisco
State/Country:	CALIFORNIA
Postal Code:	94080
PROPERTY NUMBERS Total: 1	
Property Type	Number
Application Number:	61711208
CORRESPONDENCE DATA	
Fax Number:	6508382001
<i>Correspondence will be sent via US Mail when the fax attempt is unsuccessful.</i>	
Phone:	650-838-2000
Email:	tami.tucker@alston.com
Correspondent Name:	Rosemarie L. Celli
Address Line 1:	Alston + Bird LLP
Address Line 2:	101 South Tryon Street, Suite 4000
Address Line 4:	Charlotte, NORTH CAROLINA 28280-4000
ATTORNEY DOCKET NUMBER:	057450-412615
NAME OF SUBMITTER:	Rosemarie L. Celli
Total Attachments: 3 source=412615NijjartoEPI#page1.tif source=412615NijjartoEPI#page2.tif source=412615NijjartoEPI#page3.tif	

CH \$40.00 61711208

PATENT ASSIGNMENT

Electronic Version v1.1

Stylesheet Version v1.1

SUBMISSION TYPE:	NEW ASSIGNMENT										
NATURE OF CONVEYANCE:	ASSIGNMENT										
CONVEYING PARTY DATA											
<table border="1"><thead><tr><th>Name</th><th>Execution Date</th></tr></thead><tbody><tr><td>Tarlochan S. Nijjar</td><td>10/22/2012</td></tr></tbody></table>		Name	Execution Date	Tarlochan S. Nijjar	10/22/2012						
Name	Execution Date										
Tarlochan S. Nijjar	10/22/2012										
RECEIVING PARTY DATA											
<table border="1"><tr><td>Name:</td><td>Elan Pharmaceuticals, Inc.</td></tr><tr><td>Street Address:</td><td>108 Oyster Point Boulevard</td></tr><tr><td>City:</td><td>South San Francisco</td></tr><tr><td>State/Country:</td><td>CALIFORNIA</td></tr><tr><td>Postal Code:</td><td>94080</td></tr></table>		Name:	Elan Pharmaceuticals, Inc.	Street Address:	108 Oyster Point Boulevard	City:	South San Francisco	State/Country:	CALIFORNIA	Postal Code:	94080
Name:	Elan Pharmaceuticals, Inc.										
Street Address:	108 Oyster Point Boulevard										
City:	South San Francisco										
State/Country:	CALIFORNIA										
Postal Code:	94080										
PROPERTY NUMBERS Total: 1											
<table border="1"><thead><tr><th>Property Type</th><th>Number</th></tr></thead><tbody><tr><td>Application Number:</td><td>61711208</td></tr></tbody></table>		Property Type	Number	Application Number:	61711208						
Property Type	Number										
Application Number:	61711208										
CORRESPONDENCE DATA											
Fax Number: 6508382001											
Phone: 650-838-2000											
Email: tami.tucker@alston.com											
<i>Correspondence will be sent to the e-mail address first; if that is unsuccessful, it will be sent via US Mail.</i>											
Correspondent Name: Rosemarie L. Celli											
Address Line 1: Alston + Bird LLP											
Address Line 2: 101 South Tryon Street, Suite 4000											
Address Line 4: Charlotte, NORTH CAROLINA 28280-4000											
ATTORNEY DOCKET NUMBER:	057450-412615										

NAME OF SUBMITTER:	Rosemarie L. Celli
Signature:	/Rosemarie L. Celli/
Date:	10/23/2012
Total Attachments: 3 source=412615NijartoEPI#page1.tif source=412615NijartoEPI#page2.tif source=412615NijartoEPI#page3.tif	
RECEIPT INFORMATION EPAS ID: PAT2142946 Receipt Date: 10/23/2012 Fee Amount: \$40	

ASSIGNMENT

WHEREAS Tarlochan S. Nijjar, a citizen of the United States, residing at 712 Ironbark Court, Orinda, CA 94563 hereinafter referred to as "Assignor," is inventor of the invention described and set forth in the below-identified patent application:

Title of Invention: HUMANIZED ANTIBODIES THAT RECOGNIZE
ALPHA-SYNUCLEIN

US Application No.: 61/711,208

Filing Date: October 8, 2012

WHEREAS, Elan Pharmaceuticals, Inc., a corporation duly organized under and pursuant to the laws of the state of Delaware, and having a principal place of business at 180 Oyster Point Boulevard, South San Francisco, CA 94080, hereinafter referred to as "Assignee," is desirous of acquiring Assignor's right, title and interest in and to the above-mentioned invention and application, the right to file applications on said invention, and the right, title and interest in and to any applications, including provisional applications, on said invention for Letters Patent of the United States or other countries, and any applications claiming priority to said applications, and in and to any Letters Patent or Patents of any country, to be obtained therefor and thereon;

NOW, THEREFORE, for good and valuable consideration, receipt of which are hereby acknowledged by Assignor, Assignor has assigned, transferred and set over, and by these presents do assign, transfer and set over unto Assignee, and Assignee's successors, legal representatives, and assigns, all of Assignor's right, title and interest in and to the above-mentioned invention and application, the right to file applications on said invention, and the right, title and interest in and to any such applications, including provisional applications, and any applications claiming priority from said applications for Letters Patent of the United States or other countries (including patent, utility model and industrial designs), and in and to any Letters Patent or Patents of the United States of America and all foreign countries that have been or may be granted therefor and thereon, and in and to any and all divisions, renewals, substitutions, conversions, continuations, and continuations-in-part of said applications, and reissues, prolongations and extensions of said Letters Patent or Patents, and all rights under the Paris Convention for the Protection of Industrial Property, including the right to claim priority, the same to be held and enjoyed by Assignee, for its own use and behalf and the use and behalf of Assignee's successors, legal representatives, and assigns, to the full end of the term or terms for which Letters Patent or Patents may be granted as fully and entirely as the same would have been held and enjoyed by Assignor had this Assignment not been made;

AND for the same consideration, Assignor hereby covenants and agrees to and with Assignee, its successors, legal representatives, and assigns, that Assignor shall, whenever counsel of Assignee, or the counsel of its successors, legal representatives, and assigns, advises that any proceeding in connection with said invention or said applications for Letters Patent or Patents, or any proceeding in connection with Letters Patent or Patents for said invention in any country, including interference proceedings, is lawful and desirable, or that any application

claiming priority to said application, division, continuation, continuation-in-part, substitution or conversion of any applications for Letters Patent or Patents, or any reissue, prolongation or extension of any Letters Patent or Patents to be obtained thereon, is lawful and desirable, sign all papers and documents, take all lawful oaths, and do all acts necessary or required to be done for the procurement, maintenance, enforcement and defense of Letters Patent or Patents for said invention, without charge to Assignee, its successors, legal representatives, and assigns, but at the cost and expense of Assignee, its successors, legal representatives, and assigns;

AND Assignor hereby requests the Commissioner of Patents to issue any and all said Letters Patent or Patents of the United States to Assignee as the assignee of said invention and the Letters Patent or Patents issued and to be issued thereon for the use and behalf of Assignee, its successors, legal representatives, and assigns;

AND the undersigned hereby grant(s) an authorized representative of Assignee the power to insert in this Assignment the application number and filing date and any further identification that may be necessary or desirable to comply with the rules of the U.S. Patent and Trademark Office for recordation of this Assignment.

IN TESTIMONY WHEREOF, Assignor has signed his names on the date indicated.

Dated: 10/22/12

TS Tarlochan S. Nijjar
Tarlochan S. Nijjar

EXECUTE IN THE PRESENCE OF A NOTARY

CALIFORNIA ALL-PURPOSE ACKNOWLEDGMENT

CIVIL CODE § 1189

State of California

County of SAN MATEO

On 10/22/12 before me, SUSHMA SANGANERIA-BRADY, NOTARY PUBLIC
Date Here Insert Name and Title of the Officer

personally appeared TARLOCHAN S. NIJJAR
Name(s) of Signer(s)

who proved to me on the basis of satisfactory evidence to be the person(s) whose name(s) is/are subscribed to the within instrument and acknowledged to me that he/she/they executed the same in his/her/their authorized capacity(ies), and that by his/her/their signature(s) on the instrument the person(s), or the entity upon behalf of which the person(s) acted, executed the instrument.

I certify under PENALTY OF PERJURY under the laws of the State of California that the foregoing paragraph is true and correct.

WITNESS my hand and official seal.



Signature: Sushma Sanganeria-Brady
Signature of Notary Public

Place Notary Seal Above

OPTIONAL

Though the information below is not required by law, it may prove valuable to persons relying on the document and could prevent fraudulent removal and reattachment of this form to another document.

Description of Attached Document

Title or Type of Document: _____

Document Date: _____ Number of Pages: _____

Signer(s) Other Than Named Above: _____

Capacity(ies) Claimed by Signer(s)

Signer's Name: _____

- ☐ Corporate Officer — Title(s): _____
- ☐ Individual
- ☐ Partner — ☐ Limited ☐ General
- ☐ Attorney in Fact
- ☐ Trustee
- ☐ Guardian or Conservator
- ☐ Other: _____

Signer Is Representing: _____

RIGHT THUMBPRINT
OF SIGNER
Top of thumb here

Signer's Name: _____

- ☐ Corporate Officer — Title(s): _____
- ☐ Individual
- ☐ Partner — ☐ Limited ☐ General
- ☐ Attorney in Fact
- ☐ Trustee
- ☐ Guardian or Conservator
- ☐ Other: _____

Signer Is Representing: _____

RIGHT THUMBPRINT
OF SIGNER
Top of thumb here

(Sello)

Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos

Bajo la Secretaría de Comercio para la Propiedad Intelectual

Director de la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos

Octubre 24, 2012

ROSEMARIE L. CELLI

ALSTON + BIRD LLP

502104332

101 SOUTH TRYON STREET, SUITE 4000

CHARLOTTE, NC 28280-4000

OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS

AVISO DE INSCRIPCIÓN DE DOCUMENTO DE CESIÓN

EL DOCUMENTO ADJUNTO HA SIDO INSCRITO POR LA DIVISIÓN DE CESIONES DE LA OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS. UNA COPIA COMPLETA MICROFILMADA ESTÁ DISPONIBLE EN EL SALÓN DE BÚSQUEDAS DE CESIONES EN EL NÚMERO DE ROLLO Y ESTANTE INDICADOS ADELANTE.

POR FAVOR REVISE TODA LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE AVISO. LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE AVISO DE INSCRIPCIÓN REFLEJA LOS DATOS EXISTENTES EN EL SISTEMA DE CESIONES DE MARCAS Y PATENTES. SI USTED ENCUENTRA CUALQUIER ERROR O TIENE PREGUNTAS RESPECTO A ESTE AVISO, POR FAVOR CONTACTE AL EMPLEADO CUYO NOMBRE APARECE EN ESTE AVISO AL TELÉFONO 571-272-3350. POR FAVOR ENVÍE UNA SOLICITUD DE CORRECCIÓN A: OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS, CORREO: ASSIGNMENT SERVICES BRANCH, P.O. BOX 1450, ALEXANDRIA, VA 22313.

FECHA DE INSCRIPCIÓN: 10/23/2012 ROLLO/ESTANTE: 029176/0530

NÚMERO DE PÁGINAS: 4

RESUMEN: CESIÓN DE LOS INTERESES DEL CEDENTE (VER DOCUMENTO PARA LOS DETALLES).

NUMERO DE DOCUMENTO: 057450-412615

CEDENTE:

NIJJAR, TARLOCHAN S.

FECHA DOC: 10/22/2012

CESIONARIO:

ELAN PHARMACEUTICALS, INC.

108 OYSTER POINT BOULEVARD

SOUTH SAN FRANCISCO, CALIFORNIA

94080

SOLICITUD No.: 61711208

FECHA DE PRESENTACIÓN:

NÚMERO DE PATENTE:

FECHA DE EMISIÓN:

TÍTULO: ANTICUERPOS HUMANIZADOS QUE RECONOCEN LA ALFA-SINUCLEINA

GERENCIA DE SERVICIOS DE CESIONES

DIVISIÓN DE REGISTROS PÚBLICOS

.....

502104332 10/23/2012

CESIÓN DE PATENTES

Versión electrónica v1.1

Versión del formato v1.1

TIPO DE PRESENTACIÓN	NUEVA CESIÓN
----------------------	--------------

NATURALEZA DEL TRASPASO	CESIÓN
DATOS DE LOS CEDENTES	
Nombre	Fecha de ejecución
Tarlochan S. Nijar	10/22/2012
Datos del Receptor	
Nombre:	Elan Pharmaceuticals, Inc.
Dirección domicilio:	108 Oyster Point Boulevard
Ciudad:	South San Francisco
Estado/País:	CALIFORNIA
Código Postal:	94080
NÚMERO DE PROPIEDADES Total: 1	
Tipo de Propiedad	Número
Número de Solicitud:	61711208
DATOS PARA CORRESPONDENCIA	
Número de fax: 6508382001 <i>La correspondencia será enviada mediante el correo de los Estados Unidos cuando el fax no funcione..</i> Teléfono: 650-838-2000 Correo Electrónico: tami.tucker@alston.com Nombre corresponsal: Rosemarie L. Celli Dirección Línea 1: Alston + Bird LLP. Dirección Línea 2: 101 South Tryon Street, Suite 4000 Dirección Línea 4: Charlotte, NORTH CAROLINA 28280-4000	
Numero Documento Abogado	057450-412615
Nombre de quien presenta:	Rosemarie L. Celli
Total anexos: 3 source=412615NijartoEPI#page1.tif source=412615NijartoEPI#page2.tif source=412615NijartoEPI#page3.tif	

Versión electrónica v1.1

Versión del formato v1.1

TIPO DE PRESENTACIÓN	NUEVA CESIÓN	
NATURALEZA DEL TRASPASO	CESIÓN	
DATOS DE LOS CEDENTES		
Nombre		Fecha de ejecución
Tarlochan S. Nijar		10/22/2012
Datos del Receptor		
Nombre:	Elan Pharmaceuticals, Inc.	
Dirección domicilio:	108 Oyster Point Boulevard	
Ciudad:	South San Francisco	
Estado/País:	CALIFORNIA	
Código Postal:	94080	
NÚMERO DE PROPIEDADES Total: 1		
Tipo de Propiedad	Número	
Número de Solicitud::	61711208	
DATOS PARA CORRESPONDENCIA		
Número de fax:	6508382001	
Teléfono:	650-838-2000	
Correo Electrónico:	tami.tucker@alston.com	
<i>La correspondencia será enviada por la primera dirección de correo electrónico; si falla entonces será enviada por el Correo de los Estados Unidos.</i>		
Nombre corresponsal:	Rosemarie L. Celli	
Dirección Línea 1:	Alston + Bird LLP.	
Dirección Línea 2:	101 South Tryon Street, Suite 4000	
Dirección Línea 4:	Charlotte, NORTH CAROLINA 28280-4000	
Numero Documento Abogado	057450-412615	
Nombre de quien presenta:	Rosemarie L. Celli	
Firma:	/ Rosemarie L. Celli/	
Fecha:	10/23/2012	
Total anexos: 3		

source=412615NijartoEPI#page1.tif
source=412615NijartoEPI#page2.tif
source=412615NijartoEPI#page3.tif

INFORMACIÓN DE RECEPCIÓN

EPAS ID: PAT2142946
Fecha de recepción: 10/23/2012
Tasa: \$ 40

CESIÓN

CONSIDERANDO, QUE Tarlochan S. Nijjar, ciudadano de los Estados Unidos, residente en 712 Ironbark Court, Orinda, CA 94563, de aquí en adelante referido como el “Cedente”, es el inventor de la invención descrita y plasmada en la solicitud de patente que se menciona enseguida:

Título de la Invención: ANTICUERPOS HUMANIZADOS QUE RECONOCEN LA ALFA-SINUCLLEINA

Solicitud Estadounidense No.: 61/711.208

Fecha de presentación: Octubre 8 de 2012

CONSIDERANDO QUE Elan Pharmaceuticals, Inc., una corporación debidamente organizada bajo y de acuerdo con las leyes del estado de Delaware, con oficinas principales en 180 Oyster Point Boulevard, South San Francisco, CA 94080, referida de aquí en adelante como la “Cesionaria”, está deseosa de adquirir todo el derecho, título e interés en y para la invención y solicitud mencionada del Cedente, el derecho para para presentar solicitudes para dicha invención, y el derecho, título e interés en y para cualquiera de las solicitudes, incluyendo solicitudes provisionales, en esta invención para obtener patente en los Estados Unidos o en otros países y cualesquier solicitudes de reclamación de prioridad de dichas solicitudes, y en y para cualesquier certificados de patente o Patentes en cualquier país, que se obtengan para las mismas y existentes;

AHORA POR LO TANTO, por una consideración buena y valiosa, cuya recepción es reconocida por el Cedente aquí, el Cedente, ha vendido, cedido, transferido, y entregado, y por el presente vende, cede, transfiere, y entrega a la Cesionaria, sus sucesores, representantes legales y asignados, todo el derecho, título, e interés en y para esta invención y esta solicitud, el derecho para presentar solicitudes para dicha invención, y el derecho, título e interés en

y para cualquiera de tales solicitudes, incluyendo solicitudes provisionales, y cualesquier solicitudes con reclamación de prioridad de dichas solicitudes de patente en los Estados Unidos o en otros países (incluyendo patentes, modelos de utilidad y diseños industriales), y en y para cualesquier certificados de patente o Patentes que hayan sido otorgados o puedan ser otorgados en los Estados Unidos de América y todos los países extranjeros para las mismas, y en todas las divisiones, renovaciones, sustituciones, conversiones, continuaciones, y continuaciones en parte de dichas solicitudes, y todos los títulos de patente de los Estados Unidos que hayan sido otorgados para esta, y todas la reemisiones, prologaciones y extensiones de dichos certificados de patente o Patentes, y todos los derechos bajo el Convenio de Paris para la Protección de la Propiedad Industrial, incluyendo los derechos a reclamar prioridad, para posesión y disfrute por parte del Cesionario, para su propio uso y a su nombre y el uso y posesión de sus sucesores, representantes legales y asignados, el término o términos completos para los cuales se otorguen las patentes en la misma forma en que lo disfrutaría el Cedente si esta Cesión no se llevara a cabo;

Y, por la misma consideración, acordamos además y nos comprometemos a y con el Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados, que el Cedente, siempre que el consejo del Cesionario o de sus sucesores, representantes legales y asignados, crea que es legal y conveniente entrar en procesos relacionados con dicha invención o dichas solicitudes de Patente o Patentes, o cualquier procedimiento relacionado con certificados de Patente o Patentes para dicha invención en cualquier país, incluyendo procesos de interferencia, o que cualquier solicitud de prioridad de dicha solicitud, división, continuación, continuación en parte, sustitución o conversión de cualesquier solicitudes de Patente o Patentes, o cualquier re-emisión, prolongación o extensión de cualquier Certificado de Patente o Patentes que se obtengas para las mismas, firmar todos los papeles y documentos, declaraciones juradas, y efectuar todos los actos necesarios o requeridos para procurar, mantener, defender y mantener vigente los Certificados de Patente o Patentes para dicha invención, sin cargos para el Cesionario, sus sucesores, representantes legales

y asignados, pero con costos y gastos a cargo del Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados,.

Y el Cedente solicita por el presente al Comisionado de Patentes otorgar cualquier y todos los títulos de Patente al Cesionario como cesionario de dicha invención y los títulos de Patente otorgados o que se vayan a otorgar para la misma para el uso y a nombre del Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados;

Y, el abajo firmante autoriza a un representante autorizado del Cesionario el poder para insertar en esta Cesión el número de solicitud y la fecha de presentación y cualquier identificación adicional que sea necesario o deseable para cumplir con las reglas de la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos para registrar esta Cesión.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, el Cedente ha firmado con su firma personal en la fecha indicada,

Fechado: 10/22/12

(Firmado)

Tarlochan S. Nijjar

FIRMADO EN PRESENCIA DE UN NOTARIO

RECONOCIMIENTO PARA TODO PROPÓSITO EN CALIFORNIA

(Sello)

Estado de California

Condado de San Mateo

El 10/22/12 ante mí, Sushma Sanganeria-Brady, Notario Público, se presentó personalmente Tarlochan S. Nijjar, quien probó ante mí con base en evidencia satisfactoria ser la persona cuyo nombre aparece en la firma en el instrumento anexo y reconoció ante mí que firmó el mismo con toda su capacidad y autorización, y que mediante su firma en este instrumento la persona o la entidad que representa ejecutó este instrumento.

Yo certifico bajo la pena de perjurio según las leyes del Estado de California que el párrafo anterior es verdadero y correcto.

En testimonio firmo y pongo mi sello.

(Sello) SUSHMA SANGANERIA-BRADY

Comisión No. 1924050

Notario Público – California

Condado de San Mateo

Mi comisión expira el 2 de marzo de 2015.

Firma: (Firmado)

OPCIONAL

Aunque la información que sigue no es requerida por ley, puede ser valiosa a las personas relacionadas con el documento y podría impedir la remoción y adición fraudulentas de este formato en otro documento.

Descripción del documento adjunto

Título o tipo de documento: Cesión 61/553.131

Fecha del documento:

Número de páginas:

Firmante distinto del nombrado antes:

Cargo reclamado por el firmante

Nombre del Firmante:

Funcionario de la Corporación

Individuo

Socio Ltda. General

Apoderado

Fiador

Guardián o Conservador

Otro:

El Firmante representa a:

Huella del pulgar del firmante

Nombre del Firmante:

Cargo:

Funcionario de la Corporación

Cargo:

Individuo

Socio Ltda. General

Apoderado

Fiador

Guardián o Conservador

Otro:

El Firmante representa a:

Huella del pulgar del firmante



UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

UNDER SECRETARY OF COMMERCE FOR INTELLECTUAL PROPERTY AND
DIRECTOR OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

OCTOBER 12, 2012

PTAS

ROSEMARIE L. CELLI
275 MIDDLEFIELD ROAD, SUITE 150
MENLO PARK, CA 94025-4004

502091695

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE NOTICE OF RECORDATION OF ASSIGNMENT DOCUMENT

THE ENCLOSED DOCUMENT HAS BEEN RECORDED BY THE ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH OF THE U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE. A COMPLETE COPY IS AVAILABLE AT THE ASSIGNMENT SEARCH ROOM ON THE REEL AND FRAME NUMBER REFERENCED BELOW.

PLEASE REVIEW ALL INFORMATION CONTAINED ON THIS NOTICE. THE INFORMATION CONTAINED ON THIS RECORDATION NOTICE REFLECTS THE DATA PRESENT IN THE PATENT AND TRADEMARK ASSIGNMENT SYSTEM. IF YOU SHOULD FIND ANY ERRORS OR HAVE QUESTIONS CONCERNING THIS NOTICE, YOU MAY CONTACT THE ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH AT 571-272-3350. PLEASE SEND REQUEST FOR CORRECTION TO: U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE, MAIL STOP: ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH, P.O. BOX 1450, ALEXANDRIA, VA 22313.

RECORDATION DATE: 10/11/2012

REEL/FRAME: 029113/0619
NUMBER OF PAGES: 4

BRIEF: ASSIGNMENT OF ASSIGNORS INTEREST (SEE DOCUMENT FOR DETAILS).

DOCKET NUMBER: 057450-395382

ASSIGNOR:
SALDANHA, JOSE

DOC DATE: 09/25/2012

ASSIGNEE:
NEOTOPE BIOSCIENCES LIMITED
TREASURY BUILDING
LOWER GRAND CANAL STREET
DUBLIN 2, IRELAND

APPLICATION NUMBER: 61553131

FILING DATE: 10/28/2011

PATENT NUMBER:

ISSUE DATE:

TITLE: HUMANIZED ANTIBODIES THAT RECOGNIZE ALPHA-SYNUCLEIN

ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH
PUBLIC RECORDS DIVISION

ASSIGNMENT

WHEREAS Jose Saldanha, a citizen of the United Kingdom, residing at 21 Fillebrook Avenue, Enfield, United Kingdom EN1 3BD, hereinafter referred to as "Assignor," is an inventor of the invention described and set forth in the below-identified patent application:

Title of Invention: **HUMANIZED ANTIBODIES THAT RECOGNIZE
ALPHA-SYNUCLEIN**

US Application No.: 61/553,131

Filing Date: October 28, 2011

WHEREAS, NEOTOPE BIOSCIENCES LIMITED, a private limited company incorporated under the laws of Ireland, and having its registered office at Treasury Building, Lower Grand Canal Street, Dublin 2, Ireland, hereinafter referred to as "Assignee," is desirous of acquiring Assignor's right, title and interest in and to the above-mentioned invention and application, the right to file applications on said invention, and the right, title and interest in and to any applications, including provisional applications, on said invention for Letters Patent of the United States or other countries, and any applications claiming priority to said applications, and in and to any Letters Patent or Patents of any country, to be obtained therefor and thereon;

NOW, THEREFORE, for good and valuable consideration, receipt of which is hereby acknowledged by Assignor, Assignor has assigned, transferred and set over, and by these presents does assign, transfer and set over unto Assignee, and Assignee's successors, legal representatives, and assigns, all of Assignor's right, title and interest in and to the above-mentioned invention and application, the right to file applications on said invention, and the right, title and interest in and to any such applications, including provisional applications, and any applications claiming priority from said applications for Letters Patent of the United States or other countries (including patent, utility model and industrial designs), and in and to any Letters Patent or Patents of the United States of America and all foreign countries that have been or may be granted therefor and thereon, and in and to any and all divisions, renewals, substitutions, conversions, continuations, and continuations-in-part of said applications, and reissues, prolongations and extensions of said Letters Patent or Patents, and all rights under the Paris Convention for the Protection of Industrial Property, including the right to claim priority, the same to be held and enjoyed by Assignee, for its own use and behalf and the use and behalf of Assignee's successors, legal representatives, and assigns, to the full end of the term or terms for which Letters Patent or Patents may be granted as fully and entirely as the same would have been held and enjoyed by Assignor had this Assignment not been made;

AND for the same consideration, Assignor hereby covenants and agrees to and with Assignee, its successors, legal representatives, and assigns, that Assignor shall, whenever counsel of Assignee, or the counsel of its successors, legal representatives, and assigns, advises that any proceeding in connection with said invention or said applications for Letters Patent or Patents, or any proceeding in connection with Letters Patent or Patents for said invention in any country, including interference proceedings, is lawful and desirable, or that any application claiming priority to said application, division, continuation, continuation-in-part, substitution or conversion of any applications for Letters Patent or Patents, or any reissue, prolongation or extension of any Letters Patent or Patents to be obtained thereon, is lawful and desirable, sign all papers and documents, take all lawful oaths, and do all acts necessary or required to be done for the procurement, maintenance, enforcement and defense of Letters Patent or Patents for said

invention, without charge to Assignee, its successors, legal representatives, and assigns, but at the cost and expense of Assignee, its successors, legal representatives, and assigns;

AND Assignor hereby requests the Commissioner of Patents to issue any and all said Letters Patent or Patents of the United States to Assignee as the assignee of said invention and the Letters Patent or Patents issued and to be issued thereon for the use and behalf of Assignee, its successors, legal representatives, and assigns.

IN TESTIMONY WHEREOF, Assignor has signed his names on the date indicated.

Dated: 25 Sept 2012

JS
Jose Saldanha

EXECUTE IN THE PRESENCE OF A NOTARY

Victor Julian Warner

Victor Julian Warner
Notary Public

49 Moor Mead Road
St Margarets, TW1 1JS, England

Tel: 020 8892 0092
Mob: 07930 405 336
Email: victor@andnotary.eu



I, Victor Julian Warner of 49 Moor Mead Road, St Margarets, TW1 1JS, England,
Notary Public, duly admitted and authorised to practise in England and Wales,
CERTIFY as follows:

that at The Ridgeway, Mill Hill, London, NW7 1AA, England, on the 25th
September 2012 appeared

JOSÉ WILLIAM SALDANHA, previously identified as having a date of birth
of 5 November 1961, and residing at 21 Fillebrook Avenue, Enfield, EN1 3BD,
England, British citizen and as having a United Kingdom of Great Britain and
Northern Ireland passport, passport number 301687260, expired on 3 August
2012

and **JOSÉ WILLIAM SALDANHA** signed the annexed Assignment
(comprising 1 A4 sheet of paper, printed both sides) in my presence and I added
my signature and stamp below his signature

Signed and sealed by me on 26th September 2012 at 49 Moor Mead Road, St
Margarets, TW1 1JS, England



Victor Julian Warner, Notary Public
St Margarets, England and Wales

Protocol Number: 2012/082

NOTARY PUBLIC



Victor Julian Warner
Notary Public

Tel: 020 8892 0092
Mob: 07930 405 336
Email: victor@andnotary.eu

49 Moor Mead Road
St Margarets, TW1 1JS

Member of the Notaries Society
Not registered for VAT



(Sello)

Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos

Bajo la Secretaría de Comercio para la Propiedad Intelectual

Director de la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos

Octubre 12, 2012

ROSEMARIE L. CELLI

ALSTON + BIRD LLP

502091695

101 SOUTH TRYON STREET, SUITE 4000

CHARLOTTE, NC 28280-4000

OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS

AVISO DE INSCRIPCIÓN DE DOCUMENTO DE CESIÓN

EL DOCUMENTO ADJUNTO HA SIDO INSCRITO POR LA DIVISIÓN DE CESIONES DE LA OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS. UNA COPIA COMPLETA MICROFILMADA ESTÁ DISPONIBLE EN EL SALÓN DE BÚSQUEDAS DE CESIONES EN EL NÚMERO DE ROLLO Y ESTANTE INDICADOS ADELANTE.

POR FAVOR REVISE TODA LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE AVISO. LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE AVISO DE INSCRIPCIÓN REFLEJA LOS DATOS EXISTENTES EN EL SISTEMA DE CESIONES DE MARCAS Y PATENTES. SI USTED ENCUENTRA CUALQUIER ERROR O TIENE PREGUNTAS RESPECTO A ESTE AVISO, POR FAVOR CONTACTE AL EMPLEADO CUYO NOMBRE APARECE EN ESTE AVISO AL TELÉFONO 571-272-3350. POR FAVOR ENVÍE UNA SOLICITUD DE CORRECCIÓN A: OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS, CORREO: ASSIGNMENT SERVICES BRANCH, P.O. BOX 1450, ALEXANDRIA, VA 22313.

FECHA DE INSCRIPCIÓN: 10/11/2012 ROLLO/ESTANTE: 029113/0619

NÚMERO DE PÁGINAS: 4

RESUMEN: CESIÓN DE LOS INTERESES DEL CEDENTE (VER DOCUMENTO PARA LOS DETALLES).

NUMERO DE DOCUMENTO: 057450-395382

CEDENTE:

SALDANHA, JOSE

FECHA DOC: 09/25/2012

CESIONARIO:

NEOTOPE BIOSCIENCES LIMITED

TREASURY BUILDING, LOWER GRAND CANAL STREET

DUBLIN 2, IRLANDA

SOLICITUD No.: 61553131

FECHA DE PRESENTACIÓN: 10/28/2011

NÚMERO DE PATENTE:

FECHA DE EMISIÓN:

TÍTULO: ANTICUERPOS HUMANIZADOS QUE RECONOCEN LA ALFA-SINUCLEINA

GERENCIA DE SERVICIOS DE CESIONES

DIVISIÓN DE REGISTROS PÚBLICOS

.....

Documento de abogado: 057450-395382

CESIÓN

CONSIDERANDO, QUE José Saldanha, ciudadano del Reino Unido, residente en 21 Fillebrook Avenue, Enfield, Reino Unido EN1 3BD, de aquí en adelante referido como el "Cedente", es inventor de la invención descrita y plasmada en la solicitud de patente que se menciona enseguida:

Título de la Invención: ANTICUERPOS HUMANIZADOS QUE RECONOCEN LA ALFA-SINUCLEINA

Solicitud Estadounidense No.: 61/553.131

Fecha de presentación: Octubre 28 de 2011

CONSIDERANDO QUE Neotope Biosciences Limited, una compañía privada limitada debidamente organizada bajo las leyes de Irlanda, con oficinas principales en Treasury Building, Lower grand Canal Street, Dublin 2, Irlanda, referida de aquí en adelante como la "Cesionaria", está deseosa de adquirir todo el derecho, título e interés en y para la invención y solicitud mencionada del Cedente, el derecho para para presentar solicitudes para dicha invención, y el derecho, título e interés en y para cualquiera de las solicitudes, incluyendo solicitudes provisionales, en esta invención para obtener patente en los Estados Unidos o en otros países y cualesquier solicitudes de reclamación de prioridad de dichas solicitudes, y en y para cualesquier certificados de patente o Patentes en cualquier país, que se obtengan para las mismas y existentes;

AHORA POR LO TANTO, por una consideración buena y valiosa, cuya recepción es reconocida por el Cedente aquí, el Cedente, ha vendido, cedido, transferido, y entregado, y por el presente vende, cede, transfiere, y entrega a la Cesionaria, sus sucesores, representantes legales y asignados, todo el derecho, título, e interés en y para esta invención y esta solicitud, el derecho para presentar solicitudes para dicha invención, y el derecho, título e interés en y para cualquiera de tales solicitudes, incluyendo solicitudes provisionales, y cualesquier solicitudes con reclamación de prioridad de dichas solicitudes de patente en los Estados

Unidos o en otros países (incluyendo patentes, modelos de utilidad y diseños industriales), y en y para cualesquier certificados de patente o Patentes que hayan sido otorgados o puedan ser otorgados en los Estados Unidos de América y todos los países extranjeros para las mismas, y en todas las divisiones, renovaciones, sustituciones, conversiones, continuaciones, y continuaciones en parte de dichas solicitudes, y todos los títulos de patente de los Estados Unidos que hayan sido otorgados para esta, y todas la reemisiones, prolongaciones y extensiones de dichos certificados de patente o Patentes, y todos los derechos bajo el Convenio de Paris para la Protección de la Propiedad Industrial, incluyendo los derechos a reclamar prioridad, para posesión y disfrute por parte del Cesionario, para su propio uso y a su nombre y el uso y posesión de sus sucesores, representantes legales y asignados, el término o términos completos para los cuales se otorguen las patentes en la misma forma en que lo disfrutaría el Cedente si esta Cesión no se hubiera llevado a cabo;

Y, por la misma consideración, acordamos además y nos comprometemos a y con el Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados, que el Cedente, siempre que el consejo del Cesionario o de sus sucesores, representantes legales y asignados, crea que es legal y conveniente entrar en procesos relacionados con dicha invención o dichas solicitudes de Patente o Patentes, o cualquier procedimiento relacionado con certificados de Patente o Patentes para dicha invención en cualquier país, incluyendo procesos de interferencia, o que cualquier solicitud de prioridad de dicha solicitud, división, continuación, continuación en parte, sustitución o conversión de cualesquier solicitudes de Patente o Patentes, o cualquier re-emisión, prolongación o extensión de cualquier Certificado de Patente o Patentes que se obtengas para las mismas, firmar todos los papeles y documentos, declaraciones juradas, y efectuar todos los actos necesarios o requeridos para procurar, mantener, defender y mantener vigente los Certificados de Patente o Patentes para dicha invención, sin cargos para el Cesionario, sus

sucesores, representantes legales y asignados, pero con costos y gastos a cargo del Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados,.

Y el Cedente solicita por el presente al Comisionado de Patentes otorgar cualquier y todos los títulos de Patente al Cesionario como cesionario de dicha invención y los títulos de Patente otorgados o que se vayan a otorgar para la misma para el uso y a nombre del Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados;

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, el Cedente ha firmado con su firma personal en la fecha indicada,

Fecha: 25 de Sept. 2012

(Firmado)

José Saldanha

EN PRESENCIA DEL NOTARIO

(Firmado)

Victor Julian Warner

Notario Público

49 Moor Mead Road

St Margarets, TW1 1SJ, Inglaterra

Tel: 020 8892 0092

Mov: 07930 405 336

Correo E.: victor@andnotary.eu

Yo, Victor Julian Warner de 49 Moor Road, St. Margarets, TW1 1JS, Inglaterra,
Notario Público, debidamente admitido y autorizado para practicar en Inglaterra y
Gales, CERTIFICO lo siguiente:

Que el 25 de Septiembre de 2012 se presentó en The Ridgeway, Mill Hill, Londres, NW7 1AA, Inglaterra

JOSÉ WILLIAM SALDANHA, previamente identificado con fecha de nacimiento el 5 de noviembre de 1961, y residente en 21 Fillebrook Avenue, Enfield, EN1 3BD, Inglaterra, ciudadano Británico y poseedor de un pasaporte del Reino Unido de Gran Bretaña y Irlanda del Norte, número de pasaporte 301687260, que expiró el 3 de agosto de 2012

Y **JOSÉ WILLIAM SALDANHA** firmó la Cesión anexa (Solicitud US No.: 61/711.208) (que comprende 1 A 4 hojas) frente a mí y yo agrego mi firma y sello debajo de su firma

Firmado y sellado por mí el 18 de octubre de 2012 en Moor Mead Road, St
Margarets, TW1 1JS, Inglaterra

(sello) _____ (Firmado) _____.

Victor Julian Warner, Notario Público

St. Margarets, Inglaterra y Gales

Protocolo Número: 2012/088

Victor Julian Warner

Notario Público

Tel: 020 8892 0092

Mov: 07930 405 336

Correo E.: victor@andnotary.eu

49 Moor Mead Road

St. Margarets, TW1 1JS



UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

UNDER SECRETARY OF COMMERCE FOR INTELLECTUAL PROPERTY AND
DIRECTOR OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

OCTOBER 24, 2012

PTAS

ROSEMARIE L. CELLI
ALSTON + BIRD LLP
101 SOUTH TRYON STREET, SUITE 4000
CHARLOTTE, NC 28280-4000

502104315

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE NOTICE OF RECORDATION OF ASSIGNMENT DOCUMENT

THE ENCLOSED DOCUMENT HAS BEEN RECORDED BY THE ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH OF THE U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE. A COMPLETE COPY IS AVAILABLE AT THE ASSIGNMENT SEARCH ROOM ON THE REEL AND FRAME NUMBER REFERENCED BELOW.

PLEASE REVIEW ALL INFORMATION CONTAINED ON THIS NOTICE. THE INFORMATION CONTAINED ON THIS RECORDATION NOTICE REFLECTS THE DATA PRESENT IN THE PATENT AND TRADEMARK ASSIGNMENT SYSTEM. IF YOU SHOULD FIND ANY ERRORS OR HAVE QUESTIONS CONCERNING THIS NOTICE, YOU MAY CONTACT THE ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH AT 571-272-3350. PLEASE SEND REQUEST FOR CORRECTION TO: U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE, MAIL STOP: ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH, P.O. BOX 1450, ALEXANDRIA, VA 22313.

RECORDATION DATE: 10/23/2012

REEL/FRAME: 029176/0456
NUMBER OF PAGES: 4

BRIEF: ASSIGNMENT OF ASSIGNORS INTEREST (SEE DOCUMENT FOR DETAILS).

DOCKET NUMBER: 057450-412615

ASSIGNOR:
SALDANHA, JOSE

DOC DATE: 10/18/2012

ASSIGNEE:
NEOTOPE BIOSCIENCES LIMITED
TREASURY BUILDING, LOWER GRAND CANAL
STREET
DUBLIN 2, IRELAND

APPLICATION NUMBER: 61711208

FILING DATE:

PATENT NUMBER:

ISSUE DATE:

TITLE: HUMANIZED ANTIBODIES THAT RECOGNIZE ALPHA-SYNUCLEIN

ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH
PUBLIC RECORDS DIVISION

PATENT ASSIGNMENT

Electronic Version v1.1

Stylesheet Version v1.1

SUBMISSION TYPE:	NEW ASSIGNMENT
NATURE OF CONVEYANCE:	ASSIGNMENT
CONVEYING PARTY DATA	
Name	Execution Date
Jose Saldanha	10/18/2012
RECEIVING PARTY DATA	
Name:	Neotope Biosciences Limited
Street Address:	Treasury Building, Lower Grand Canal Street
City:	Dublin 2
State/Country:	IRELAND
PROPERTY NUMBERS Total: 1	
Property Type	Number
Application Number:	61711208
CORRESPONDENCE DATA	
Fax Number:	6508382001
<i>Correspondence will be sent via US Mail when the fax attempt is unsuccessful.</i>	
Phone:	650-838-2000
Email:	tami.tucker@alston.com
Correspondent Name:	Rosemarie L. Celli
Address Line 1:	Alston + Bird LLP
Address Line 2:	101 South Tryon Street, Suite 4000
Address Line 4:	Charlotte, NORTH CAROLINA 28280-4000
ATTORNEY DOCKET NUMBER:	057450-412615
NAME OF SUBMITTER:	Rosemarie L. Celli
Total Attachments: 3 source=412615SaldanhatoNBL#page1.tif source=412615SaldanhatoNBL#page2.tif source=412615SaldanhatoNBL#page3.tif	

CH \$40.00 61711208

PATENT ASSIGNMENT

Electronic Version v1.1

Stylesheet Version v1.1

SUBMISSION TYPE:	NEW ASSIGNMENT
NATURE OF CONVEYANCE:	ASSIGNMENT
CONVEYING PARTY DATA	
Name	Execution Date
Jose Saldanha	10/18/2012
RECEIVING PARTY DATA	
Name:	Neotope Biosciences Limited
Street Address:	Treasury Building, Lower Grand Canal Street
City:	Dublin 2
State/Country:	IRELAND
PROPERTY NUMBERS Total: 1	
Property Type	Number
Application Number:	61711208
CORRESPONDENCE DATA	
Fax Number:	6508382001
Phone:	650-838-2000
Email:	tami.tucker@alston.com
<i>Correspondence will be sent to the e-mail address first; if that is unsuccessful, it will be sent via US Mail.</i>	
Correspondent Name:	Rosemarie L. Celli
Address Line 1:	Alston + Bird LLP
Address Line 2:	101 South Tryon Street, Suite 4000
Address Line 4:	Charlotte, NORTH CAROLINA 28280-4000
ATTORNEY DOCKET NUMBER:	057450-412615
NAME OF SUBMITTER:	Rosemarie L. Celli

Signature:	/Rosemarie L. Celli/
Date:	10/23/2012
Total Attachments: 3 source=412615SaldanhatoNBL#page1.tif source=412615SaldanhatoNBL#page2.tif source=412615SaldanhatoNBL#page3.tif	
RECEIPT INFORMATION EPAS ID: PAT2142929 Receipt Date: 10/23/2012 Fee Amount: \$40	



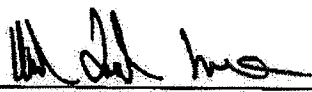
I, Victor Julian Warner of 49 Moor Mead Road, St Margarets, TW1 1JS, England,
Notary Public, duly admitted and authorised to practise in England and Wales,
CERTIFY as follows:

that at The Ridgeway, Mill Hill, London, NW7 1AA, England, on the 18th
October 2012 appeared

JOSÉ WILLIAM SALDANHA, previously identified as having a date of birth
of 5 November 1961, and residing at 21 Fillebrook Avenue, Enfield, EN1 3BD,
England, British citizen and as having a United Kingdom of Great Britain and
Northern Ireland passport, passport number 301687260, expired on 3 August
2012

and **JOSÉ WILLIAM SALDANHA** signed the annexed Assignment (US
Application No.: 61/711,208) (comprising 2 A4 sheets of paper) in my presence
and I added my signature and stamp below his signature

Signed and sealed by me on 18 October 2012 at 49 Moor Mead Road, St
Margarets, TW1 1JS, England


Victor Julian Warner, Notary Public
St Margarets, England and Wales

Protocol Number: 2012/088

NOTARY PUBLIC

Victor Julian Warner
Notary Public

Tel: 020 8892 0092
Mob: 07930 405 336
Email: victor@andnotary.eu

49 Moor Mead Road
St Margarets, TW1 1JS

ASSIGNMENT

WHEREAS Jose Saldanha, a citizen of the United Kingdom, residing at 21 Fillebrook Avenue, Enfield, United Kingdom EN1 3BD hereinafter referred to as "Assignor," is inventor of the invention described and set forth in the below-identified patent application:

Title of Invention: HUMANIZED ANTIBODIES THAT RECOGNIZE
ALPHA-SYNUCLEIN

US Application No.: 61/711,208

Filing Date: October 8, 2012

WHEREAS, Neotope Biosciences Limited, a private limited company incorporated under the laws of Ireland, and having a principal place of business at Treasury Building, Lower Grand Canal Street Dublin 2, Ireland, hereinafter referred to as "Assignee," is desirous of acquiring Assignor's right, title and interest in and to the above-mentioned invention and application, the right to file applications on said invention, and the right, title and interest in and to any applications, including provisional applications, on said invention for Letters Patent of the United States or other countries, and any applications claiming priority to said applications, and in and to any Letters Patent or Patents of any country, to be obtained therefor and thereon;

NOW, THEREFORE, for good and valuable consideration, receipt of which are hereby acknowledged by Assignor, Assignor has assigned, transferred and set over, and by these presents do assign, transfer and set over unto Assignee, and Assignee's successors, legal representatives, and assigns, all of Assignor's right, title and interest in and to the above-mentioned invention and application, the right to file applications on said invention, and the right, title and interest in and to any such applications, including provisional applications, and any applications claiming priority from said applications for Letters Patent of the United States or other countries (including patent, utility model and industrial designs), and in and to any Letters Patent or Patents of the United States of America and all foreign countries that have been or may be granted therefor and thereon, and in and to any and all divisions, renewals, substitutions, conversions, continuations, and continuations-in-part of said applications, and reissues, prolongations and extensions of said Letters Patent or Patents, and all rights under the Paris Convention for the Protection of Industrial Property, including the right to claim priority, the same to be held and enjoyed by Assignee, for its own use and behalf and the use and behalf of Assignee's successors, legal representatives, and assigns, to the full end of the term or terms for which Letters Patent or Patents may be granted as fully and entirely as the same would have been held and enjoyed by Assignor had this Assignment not been made;

AND for the same consideration, Assignor hereby covenants and agrees to and with Assignee, its successors, legal representatives, and assigns, that Assignor shall, whenever counsel of Assignee, or the counsel of its successors, legal representatives, and assigns, advises that any proceeding in connection with said invention or said applications for Letters Patent or Patents, or any proceeding in connection with Letters Patent or Patents for said invention in any country, including interference proceedings, is lawful and desirable, or that any application

claiming priority to said application, division, continuation, continuation-in-part, substitution or conversion of any applications for Letters Patent or Patents, or any reissue, prolongation or extension of any Letters Patent or Patents to be obtained thereon, is lawful and desirable, sign all papers and documents, take all lawful oaths, and do all acts necessary or required to be done for the procurement, maintenance, enforcement and defense of Letters Patent or Patents for said invention, without charge to Assignee, its successors, legal representatives, and assigns, but at the cost and expense of Assignee, its successors, legal representatives, and assigns;

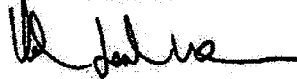
AND Assignor hereby requests the Commissioner of Patents to issue any and all said Letters Patent or Patents of the United States to Assignee as the assignee of said invention and the Letters Patent or Patents issued and to be issued thereon for the use and behalf of Assignee, its successors, legal representatives, and assigns;

AND the undersigned hereby grant(s) an authorized representative of Assignee the power to insert in this Assignment the application number and filing date and any further identification that may be necessary or desirable to comply with the rules of the U.S. Patent and Trademark Office for recordation of this Assignment.

IN TESTIMONY WHEREOF, Assignor has signed his names on the date indicated.

Dated: 18th Oct 2012



Jose Saldanha


Victor Julian Warner
Notary Public
49 Moor Mead Road
St Margarets, TW1 1J3, England
Tel: 020 8892 0082
Mob: 07930 405 336
Email: victor@andnotary.eu

EXECUTE IN THE PRESENCE OF A NOTARY

(Sello)

Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos

Bajo la Secretaría de Comercio para la Propiedad Intelectual

Director de la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos

Octubre 24, 2012

ROSEMARIE L. CELLI

ALSTON + BIRD LLP

502104315

101 SOUTH TRYON STREET, SUITE 4000

CHARLOTTE, NC 28280-4000

OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS

AVISO DE INSCRIPCIÓN DE DOCUMENTO DE CESIÓN

EL DOCUMENTO ADJUNTO HA SIDO INSCRITO POR LA DIVISIÓN DE CESIONES DE LA OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS. UNA COPIA COMPLETA MICROFILMADA ESTÁ DISPONIBLE EN EL SALÓN DE BÚSQUEDAS DE CESIONES EN EL NÚMERO DE ROLLO Y ESTANTE INDICADOS ADELANTE.

POR FAVOR REVISE TODA LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE AVISO. LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE AVISO DE INSCRIPCIÓN REFLEJA LOS DATOS EXISTENTES EN EL SISTEMA DE CESIONES DE MARCAS Y PATENTES. SI USTED ENCUENTRA CUALQUIER ERROR O TIENE PREGUNTAS RESPECTO A ESTE AVISO, POR FAVOR CONTACTE AL EMPLEADO CUYO NOMBRE APARECE EN ESTE AVISO AL TELÉFONO 571-272-3350. POR FAVOR ENVÍE UNA SOLICITUD DE CORRECCIÓN A: OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS, CORREO: ASSIGNMENT SERVICES BRANCH, P.O. BOX 1450, ALEXANDRIA, VA 22313.

FECHA DE INSCRIPCIÓN: 10/23/2012 ROLLO/ESTANTE: 029176/0456

NÚMERO DE PÁGINAS: 4

RESUMEN: CESIÓN DE LOS INTERESES DEL CEDENTE (VER DOCUMENTO PARA LOS DETALLES).

NUMERO DE DOCUMENTO: 057450-412615

CEDENTE:

SALDANHA, JOSE

FECHA DOC: 10/18/2012

CESIONARIO:

NEOTOPE BIOSCIENCES LIMITED

TREASURY BUILDING, LOWER GRAND CANAL STREET

DUBLIN 2, IRLANDA

SOLICITUD No.: 61711208

FECHA DE PRESENTACIÓN:

NÚMERO DE PATENTE:

FECHA DE EMISIÓN:

TÍTULO: ANTICUERPOS HUMANIZADOS QUE RECONOCEN LA ALFA-SINUCLEINA

GERENCIA DE SERVICIOS DE CESIONES

DIVISIÓN DE REGISTROS PÚBLICOS

.....

502104315 10/23/2012

CESIÓN DE PATENTES

Versión electrónica v1.1

Versión del formato v1.1

TIPO DE PRESENTACIÓN	NUEVA CESIÓN	
NATURALEZA DEL TRASPASO	CESIÓN	
DATOS DE LOS CEDENTES		
Nombre		Fecha de ejecución
José Saldanha		10/18/2012
Datos del Receptor		
Nombre:	Neotope Biosciences Limited	
Dirección domicilio:	Treasury Building, Lower Grand Canal Street	
Ciudad:	Dublin 2	
Estado/País:	Irlanda	
NÚMERO DE PROPIEDADES Total: 1		
Tipo de Propiedad	Número	
Número de Solicitud::	61711208	
DATOS PARA CORRESPONDENCIA		
Número de fax: 6508382001 <i>La correspondencia será enviada mediante el correo de los Estados Unidos cuando el fax no funcione..</i> Teléfono: 650-838-2000 Correo Electrónico: tami.tucker@alston.com Nombre corresponsal: Rosemarie L. Celli Dirección Línea 1: Alston + Bird LLP. Dirección Línea 2: 101 South Tryon Street, Suite 4000 Dirección Línea 4: Charlotte, NORTH CAROLINA 28280-4000		
Numero Documento Abogado	057450-412615	
Nombre de quien presenta:	Rosemarie L. Celli	
Total anexos: 3 source=412615SaldanhatoNBL#page1.tif source=412615SaldanhatoNBL#page2.tif source=412615SaldanhatoNBL#page3.tif		

CESIÓN DE PATENTES

Versión electrónica v1.1

Versión del formato v1.1

TIPO DE PRESENTACIÓN	NUEVA CESIÓN	
NATURALEZA DEL TRASPASO	CESIÓN	
DATOS DE LOS CEDENTES		
Nombre		Fecha de ejecución
José Saldanha		10/18/2012
Datos del Receptor		
Nombre:	Neotope Biosciences Limited	
Dirección domicilio:	Treasury Building, Lower Grand Canal Street	
Ciudad:	Dublin 2	
Estado/País:	IRLANDA	
NÚMERO DE PROPIEDADES Total: 1		
Tipo de Propiedad	Número	
Número de Solicitud::	61711208	
DATOS PARA CORRESPONDENCIA		
Número de fax:	6508382001	
Teléfono:	650-838-2000	
Correo Electrónico:	tami.tucker@alston.com	
<i>La correspondencia será enviada por la primera dirección de correo electrónico; si falla entonces será enviada por el Correo de los Estados Unidos.</i>		
Nombre corresponsal:	Rosemarie L. Celli	
Dirección Línea 1:	Alston + Bird LLP.	

Dirección Línea 2: 101 South Tryon Street, Suite 4000	
Dirección Línea 4: Charlotte, NORTH CAROLINA 28280-4000	
Numero Documento Abogado	057450-412615
Nombre de quien presenta:	Rosemarie L. Celli
Firma:	/ Rosemarie L. Celli/
Fecha:	10/23/2012
Total anexos: 3 source=412615SaldanhatoNBL#page1.tif source=412615SaldanhatoNBL#page2.tif source=412615SaldanhatoNBL#page3.tif	
INFORMACIÓN DE RECEPCIÓN EPAS ID: PAT2142929 Fecha de recepción: 10/23/2012 Tasa: \$ 40	

Yo, Victor Julian Warner de 49 Moor Road, St. Margarets, TW1 1JS, Inglaterra,
Notario Público, debidamente admitido y autorizado para practicar en Inglaterra y
Gales, CERTIFICO lo siguiente:

Que el 18 de Octubre de 2012 se presentó en The Ridgeway, Mill Hill, Londres,
NW7 1AA, Inglaterra

JOSÉ WILLIAM SALDANHA, previamente identificado con fecha de nacimiento el
5 de noviembre de 1961, y residente en 21 Fillebrook Avenue, Enfield, EN1 3BD,
Inglaterra, ciudadano Británico y poseedor de un pasaporte del Reino Unido de
Gran Bretaña y Irlanda del Norte, número de pasaporte 301687260, que expiró el
3 de agosto de 2012

Y **JOSÉ WILLIAM SALDANHA** firmó la Cesión anexa (Solicitud US No.:
61/711.208) (que comprende 2 A 4 hojas) frente a mí y yo agrego mi firma y sello
debajo de su firma

Firmado y sellado por mí el 18 de octubre de 2012 en Moor Mead Road, St
Margarets, TW1 1JS, Inglaterra

(sello) (Firmado) .

Victor Julian Warner, Notario Público

St. Margarets, Inglaterra y Gales

Protocolo Número: 2012/088

Victor Julian Warner

Notario Público

Tel: 020 8892 0092

Mov: 07930 405 336

Correo E.: victor@andnotary.eu

49 Moor Mead Road

St. Margarets, TW1 1JS

Documento de abogado: 057450-412615

CESIÓN

CONSIDERANDO, QUE José Saldanha, ciudadano del Reino Unido, residente en 21 Fillebrook Avenue, Enfield, Reino Unido EN1 3BD, de aquí en adelante referido como el “Cedente”, es inventor de la invención descrita y plasmada en la solicitud de patente que se menciona enseguida:

Título de la Invención: ANTICUERPOS HUMANIZADOS QUE RECONOCEN LA ALFA-SINUCLEINA

Solicitud Estadounidense No.: 61/711.208

Fecha de presentación: Octubre 8 de 2012

CONSIDERANDO QUE Neotope Biosciences Limited, una compañía privada limitada debidamente organizada bajo las leyes de Irlanda, con oficinas principales en Treasury Building, Lower grand Canal Street, Dublin 2, Irlanda, referida de aquí en adelante como la “Cesionaria”, está deseosa de adquirir todo el derecho, título e interés en y para la invención y solicitud mencionada del Cedente, el derecho

para para presentar solicitudes para dicha invención, y el derecho, título e interés en y para cualquiera de las solicitudes, incluyendo solicitudes provisionales, en esta invención para obtener patente en los Estados Unidos o en otros países y cualesquier solicitudes de reclamación de prioridad de dichas solicitudes, y en y para cualesquier certificados de patente o Patentes en cualquier país, que se obtengan para las mismas y existentes;

AHORA POR LO TANTO, por una consideración buena y valiosa, cuya recepción es reconocida por el Cedente aquí, el Cedente, ha vendido, cedido, transferido, y entregado, y por el presente vende, cede, transfiere, y entrega a la Cesionaria, sus sucesores, representantes legales y asignados, todo el derecho, título, e interés en y para esta invención y esta solicitud, el derecho para presentar solicitudes para dicha invención, y el derecho, título e interés en y para cualquiera de tales solicitudes, incluyendo solicitudes provisionales, y cualesquier solicitudes con reclamación de prioridad de dichas solicitudes de patente en los Estados Unidos o en otros países (incluyendo patentes, modelos de utilidad y diseños industriales), y en y para cualesquier certificados de patente o Patentes que hayan sido otorgados o puedan ser otorgados en los Estados Unidos de América y todos los países extranjeros para las mismas, y en todas las divisiones, renovaciones, sustituciones, conversiones, continuaciones, y continuaciones en parte de dichas solicitudes, y todos los títulos de patente de los Estados Unidos que hayan sido otorgados para esta, y todas la reemisiones, prolongaciones y extensiones de dichos certificados de patente o Patentes, y todos los derechos bajo el Convenio de Paris para la Protección de la Propiedad Industrial, incluyendo los derechos a reclamar prioridad, para posesión y disfrute por parte del Cesionario, para su propio uso y a su nombre y el uso y posesión de sus sucesores, representantes legales y asignados, el término o términos completos para los cuales se otorguen las patentes en la misma forma en que lo disfrutaría el Cedente si esta Cesión no se hubiera llevado a cabo;

Y, por la misma consideración, acordamos además y nos comprometemos a y con el Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados, que el Cedente, siempre que el consejo del Cesionario o de sus sucesores, representantes legales y asignados, crea que es legal y conveniente entrar en procesos relacionados con dicha invención o dichas solicitudes de Patente o Patentes, o cualquier procedimiento relacionado con certificados de Patente o Patentes para dicha invención en cualquier país, incluyendo procesos de interferencia, o que cualquier solicitud de prioridad de dicha solicitud, división, continuación, continuación en parte, sustitución o conversión de cualesquier solicitudes de Patente o Patentes, o cualquier re-emisión, prolongación o extensión de cualquier Certificado de Patente o Patentes que se obtengas para las mismas, firmar todos los papeles y documentos, declaraciones juradas, y efectuar todos los actos necesarios o requeridos para procurar, mantener, defender y mantener vigente los Certificados de Patente o Patentes para dicha invención, sin cargos para el Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados, pero con costos y gastos a cargo del Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados,.

Y el Cedente solicita por el presente al Comisionado de Patentes otorgar cualquier y todos los títulos de Patente al Cesionario como cesionario de dicha invención y los títulos de Patente otorgados o que se vayan a otorgar para la misma para el uso y a nombre del Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados;

Y, el abajo firmante autoriza a un representante autorizado del Cesionario el poder para insertar en esta Cesión el número de solicitud y la fecha de presentación y cualquier identificación adicional que sea necesario o deseable para cumplir con las reglas de la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos para registrar esta Cesión.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, el Cedente ha firmado con su firma personal en la fecha indicada,

Fechado: 18 de Oct. 2012

(Firmado)

José Saldanha

(Firmado)

Victor Julian Warner

Notario Público

49 Moor Mead Road

St Margarets, TW1 1SJ, Inglaterra

Tel: 020 8892 0092

Mov: 07930 405 336

Correo E.: victor@andnotary.eu



UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

UNDER SECRETARY OF COMMERCE FOR INTELLECTUAL PROPERTY AND
DIRECTOR OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

OCTOBER 12, 2012

PTAS

ROSEMARIE L. CELLI
ALSTON + BIRD LLP
101 SOUTH TRYON STREET, SUITE 4000
CHARLOTTE, NC 28280-4000

502091756

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE NOTICE OF RECORDATION OF ASSIGNMENT DOCUMENT

THE ENCLOSED DOCUMENT HAS BEEN RECORDED BY THE ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH OF THE U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE. A COMPLETE COPY IS AVAILABLE AT THE ASSIGNMENT SEARCH ROOM ON THE REEL AND FRAME NUMBER REFERENCED BELOW.

PLEASE REVIEW ALL INFORMATION CONTAINED ON THIS NOTICE. THE INFORMATION CONTAINED ON THIS RECORDATION NOTICE REFLECTS THE DATA PRESENT IN THE PATENT AND TRADEMARK ASSIGNMENT SYSTEM. IF YOU SHOULD FIND ANY ERRORS OR HAVE QUESTIONS CONCERNING THIS NOTICE, YOU MAY CONTACT THE ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH AT 571-272-3350. PLEASE SEND REQUEST FOR CORRECTION TO: U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE, MAIL STOP: ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH, P.O. BOX 1450, ALEXANDRIA, VA 22313.

RECORDATION DATE: 10/11/2012

REEL/FRAME: 029113/0859
NUMBER OF PAGES: 4

BRIEF: ASSIGNMENT OF ASSIGNORS INTEREST (SEE DOCUMENT FOR DETAILS).

DOCKET NUMBER: 057450-395382

ASSIGNOR:

ELAN PHARMACEUTICALS, INC.

DOC DATE: 10/10/2012

ASSIGNEE:

NEOTOPE BIOSCIENCES LIMITED
TREASURY BUILDING, LOWER GRAND CANAL
STREET
DUBLIN 2, IRELAND

APPLICATION NUMBER: 61553131

FILING DATE: 10/28/2011

PATENT NUMBER:

ISSUE DATE:

TITLE: HUMANIZED ANTIBODIES THAT RECOGNIZE ALPHA-SYNUCLEIN

ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH
PUBLIC RECORDS DIVISION

ASSIGNMENT

THIS ASSIGNMENT, by ELAN PHARMACEUTICALS, INC., a corporation duly organized under and pursuant to the laws of Delaware, and having its principal place of business at 180 Oyster Point Boulevard, South San Francisco, CA 94080 (hereinafter referred to as "Assignor"), witnesseth:

WHEREAS, Assignor is the owner of an undivided right, title and interest in and to the invention set forth as follows:

Title of Invention: HUMANIZED ANTIBODIES THAT RECOGNIZE
ALPHA-SYNUCLEIN

US Application No.: 61/553,131

Filing Date: October 28, 2011

WHEREAS, NEOTOPE BIOSCIENCES LIMITED, a private limited company incorporated under the laws of Ireland, and having its registered office at Treasury Building, Lower Grand Canal Street, Dublin 2, Ireland (hereinafter referred to as "Assignee"), pursuant to the Research and Development Agreement dated as of March 23, 2010 (hereinafter referred to as "the R&D Agreement") between Assignor and Assignee, has acquired Assignor's right, title, and interest in and to the above-mentioned application and invention, the right to file applications on said invention, and the right, title and interest in and to any applications, including provisional applications, on said invention for Letters Patent of the United States or other countries, and any applications claiming priority to said applications, and in and to any Letters Patent or Patents of any country, to be obtained therefor and thereon;

NOW, THEREFORE, pursuant to the R&D Agreement, for good and sufficient consideration, the receipt of which is hereby acknowledged, Assignor has assigned, transferred, and set over, and by these presents does assign, transfer, and set over unto Assignee, and Assignee's successors, legal representatives, and assigns, all of Assignor's right, title, and interest in and to the above-mentioned invention and application, the right to file applications on said invention and the right, title and interest in and to any such applications, including provisional applications, and any applications claiming priority from said applications for Letters Patent of the United States or other countries, and any and all Letters Patent or Patents of the United States of America and all foreign countries that have been or may be granted therefor and thereon, and in and to any and all divisions, renewals, substitutions, conversions, continuations, and continuations-in-part of said applications, and reissues, prolongations and extensions of said Letters Patent or Patents, and all rights under the Paris Convention for the Protection of Industrial Property, including the right to claim priority, the same to be held and enjoyed by Assignee, for its own use and behalf and the use and behalf of its successors, legal representatives, and assigns, to the full end of the term or terms for which Letters Patent or Patents may be granted as fully and entirely as the same would have been held and enjoyed by Assignor had its assignment not been made;

AND Assignor hereby covenants that Assignor has the full right to convey the interest assigned by this Assignment, and Assignor has not executed and will not execute any agreement in conflict with this Assignment;

AND for the same consideration, Assignor hereby covenants and agrees to and with Assignee, its successors, legal representatives, and assigns, that Assignor shall, whenever counsel of Assignee, or the counsel of its successors, legal representatives, and assigns, advises that any proceeding in connection with said invention or said applications for Letters Patent or Patents, or any proceeding in connection with Letters Patent or Patents for said invention in any country, including interference proceedings, is lawful and desirable, or that any application claiming priority to said applications, division, continuation, continuation-in-part, substitution or conversion of any applications for Letters Patent or Patents, or any reissue, prolongation or extension of any Letters Patent or Patents to be obtained thereon, is lawful and desirable, sign all papers and documents, take all lawful oaths, and do all acts necessary or required to be done for the procurement, maintenance, enforcement and defense of Letters Patent or Patents for said invention, without charge to Assignee, but at the cost and expense of Assignee, its successors, legal representatives, and assigns;

AND Assignor hereby requests the Commissioner of Patents to issue any and all said Letters Patent or Patents of the United States to Assignee as the assignee of said invention and the Letters Patent or Patents issued and to be issued thereon for the sole use and behalf of Assignee, its successors, legal representatives, and assigns.

IN TESTIMONY WHEREOF, a duly authorized representative of Assignor has signed on the date indicated.

ELAN PHARMACEUTICALS, INC. TS

Date: 10-10-12

By: 

Printed Name: Atulya R. Agarwal
Title: Chief Intellectual Property Officer

EXECUTE IN THE PRESENCE OF A NOTARY

CALIFORNIA ALL-PURPOSE ACKNOWLEDGMENT

CIVIL CODE § 1189

State of California

County of SAN MATEO

On OCTOBER 19, 2012 before me, SUSHMA SANGANERIA-BRADY, NOTARY PUBLIC

personally appeared ATULYA AGARWAL

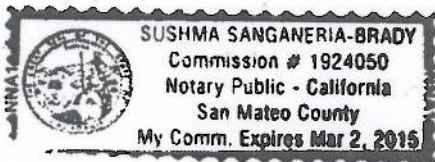
Here Insert Name and Title of the Officer

Name(s) of Signer(s)

who proved to me on the basis of satisfactory evidence to be the person(s) whose name(s) is/are subscribed to the within instrument and acknowledged to me that he/she/they executed the same in his/her/their authorized capacity(ies), and that by his/her/their signature(s) on the instrument the person(s), or the entity upon behalf of which the person(s) acted, executed the instrument.

I certify under PENALTY OF PERJURY under the laws of the State of California that the foregoing paragraph is true and correct.

WITNESS my hand and official seal.



Place Notary Seal Above

Signature: Sushma Sanganeria-Brady
Signature of Notary Public

OPTIONAL

Though the information below is not required by law, it may prove valuable to persons relying on the document and could prevent fraudulent removal and reattachment of this form to another document.

Description of Attached Document

Title or Type of Document: ASSIGNMENT 61/553.131

Document Date: _____ Number of Pages: _____

Signer(s) Other Than Named Above: _____

Capacity(ies) Claimed by Signer(s)

Signer's Name: _____

☐ Corporate Officer — Title(s): _____

☐ Individual

☐ Partner — ☐ Limited ☐ General

☐ Attorney in Fact

☐ Trustee

☐ Guardian or Conservator

☐ Other: _____

Signer Is Representing: _____

RIGHT THUMBPRINT
OF SIGNER
Top of thumb here

Signer's Name: _____

☐ Corporate Officer — Title(s): _____

☐ Individual

☐ Partner — ☐ Limited ☐ General

☐ Attorney in Fact

☐ Trustee

☐ Guardian or Conservator

☐ Other: _____

Signer Is Representing: _____

RIGHT THUMBPRINT
OF SIGNER
Top of thumb here

(Sello)

Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos

Bajo la Secretaría de Comercio para la Propiedad Intelectual

Director de la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos

Octubre 12, 2012

ROSEMARIE L. CELLI

ALSTON + BIRD LLP

502091756

101 SOUTH TRYON STREET, SUITE 4000

CHARLOTTE, NC 28280-4000

OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS

AVISO DE INSCRIPCIÓN DE DOCUMENTO DE CESIÓN

EL DOCUMENTO ADJUNTO HA SIDO INSCRITO POR LA DIVISIÓN DE CESIONES DE LA OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS. UNA COPIA COMPLETA MICROFILMADA ESTÁ DISPONIBLE EN EL SALÓN DE BÚSQUEDAS DE CESIONES EN EL NÚMERO DE ROLLO Y ESTANTE INDICADOS ADELANTE.

POR FAVOR REVISE TODA LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE AVISO. LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE AVISO DE INSCRIPCIÓN REFLEJA LOS DATOS EXISTENTES EN EL SISTEMA DE CESIONES DE MARCAS Y PATENTES. SI USTED ENCUENTRA CUALQUIER ERROR O TIENE PREGUNTAS RESPECTO A ESTE AVISO, POR FAVOR CONTACTE AL EMPLEADO CUYO NOMBRE APARECE EN ESTE AVISO AL TELÉFONO 571-272-3350. POR FAVOR ENVÍE UNA SOLICITUD DE CORRECCIÓN A: OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS, CORREO: ASSIGNMENT SERVICES BRANCH, P.O. BOX 1450, ALEXANDRIA, VA 22313.

FECHA DE INSCRIPCIÓN: 10/11/2012 ROLLO/ESTANTE: 029113/0859

NÚMERO DE PÁGINAS: 4

RESUMEN: CESIÓN DE LOS INTERESES DEL CEDENTE (VER DOCUMENTO PARA LOS DETALLES).

NUMERO DE DOCUMENTO: 057450-395382

CEDENTE:

ELAN PHARMACEUTICALS, INC.

FECHA DOC: 10/10/2012

CESIONARIO:

NEOTOPE BIOSCIENCE LIMITED

TREASURY BUILDING, LOWER GRAND CANAL STREET

DUBLIN 2, IRELAND

SOLICITUD No.: 61553131

FECHA DE PRESENTACIÓN: 10/28/2011

NÚMERO DE PATENTE:

FECHA DE EMISIÓN:

TÍTULO: ANTICUERPOS HUMANIZADOS QUE RECONOCEN LA ALFA-SINUCLEINA

GERENCIA DE SERVICIOS DE CESIONES

DIVISIÓN DE REGISTROS PÚBLICOS

.....

CESIÓN

ESTA CESIÓN, por ELAN PHARMACEUTICALS, INC., una corporación debidamente organizada bajo y de acuerdo con las leyes del estado de Delaware, con oficinas principales en 180 Oyster Point Boulevard, South San Francisco, CA 94080, (referida de aquí en adelante como la “Cedente”), testifica:

CONSIDERANDO, QUE la Cedente es la propietaria de un derecho, título e interés no divididos, en y de la invención descrita como se menciona enseguida:

Título de la Invención: ANTICUERPOS HUMANIZADOS QUE RECONOCEN LA ALFA-SINUCLINA

Solicitud Estadounidense No.: 61/533.131

Fecha de presentación: Octubre 28 de 2011

CONSIDERANDO QUE NEOTOPE BIOSCIENCES LIMITED, una compañía limitada privada debidamente organizada bajo las leyes de Irlanda, y con oficinas registradas Treasury Building, Lower Grand Canal Street, Dublin 2, Irlanda, (referida de aquí en adelante como la “Cesionaria”), de acuerdo con el Acuerdo de Investigación y Desarrollo fechado 23 de marzo de 2010 (llamado de aquí en adelante el “R&D Agreement”) entre la cedente y la Cesionaria, ha adquirido todo el derecho, título e interés en y para la invención y solicitud mencionadas de la Cedente, el derecho para para presentar solicitudes para dicha invención, y el derecho, título e interés en y para cualquiera de las solicitudes, incluyendo solicitudes provisionales, en esta invención para obtener patente en los Estados Unidos o en otros países y cualesquier solicitudes de reclamación de prioridad de dichas solicitudes, y en y para cualesquier certificados de patente o Patentes en cualquier país, que se obtengan para las mismas y existentes;

AHORA POR LO TANTO, de acuerdo con el R&D Agreement, por una consideración buena y valiosa, cuya recepción es reconocida por el Cedente aquí, el Cedente, ha vendido, cedido, transferido, y entregado, y por el presente vende, cede, transfiere, y entrega a la Cesionaria, sus sucesores, representantes legales y asignados, todo el derecho, título, e interés en y para esta invención y esta solicitud, el derecho para presentar solicitudes para dicha invención, y el derecho, título e interés en y para cualquiera de tales solicitudes, incluyendo solicitudes provisionales, y cualesquier solicitudes con reclamación de prioridad de dichas solicitudes de patente en los Estados Unidos o en otros países (incluyendo patentes, modelos de utilidad y diseños industriales), y en y para cualesquier certificados de patente o Patentes que hayan sido otorgados o puedan ser otorgados en los Estados Unidos de América y todos los países extranjeros para las mismas, y en todas las divisiones, renovaciones, sustituciones, conversiones, continuaciones, y continuaciones en parte de dichas solicitudes, y todos los títulos de patente de los Estados Unidos que hayan sido otorgados para esta, y todas la reemisiones, prologaciones y extensiones de dichos certificados de patente o Patentes, y todos los derechos bajo el Convenio de Paris para la Protección de la Propiedad Industrial, incluyendo los derechos a reclamar prioridad, para posesión y disfrute por parte del Cesionario, para su propio uso y a su nombre y el uso y posesión de sus sucesores, representantes legales y asignados, el término o términos completos para los cuales se otorguen las patentes en la misma forma en que lo disfrutaría la Cedente si esta Cesión no se hubiera llevado a cabo;

Y, la Cedente pacta y acuerda por el presente que la Cedente tiene el derecho completo para entregar el interés cedido por esta Cesión, y que la Cedente no ha firmado y no firmará ningún acuerdo que esté en conflicto con esta Cesión;

Y, por la misma consideración, acordamos además y nos comprometemos a y con el Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados, que el Cedente,

siempre que el consejo del Cesionario o de sus sucesores, representantes legales y asignados, crea que es legal y conveniente entrar en procesos relacionados con dicha invención o dichas solicitudes de Patente o Patentes, o cualquier procedimiento relacionado con certificados de Patente o Patentes para dicha invención en cualquier país, incluyendo procesos de interferencia, o que cualquier solicitud de prioridad de dicha solicitud, división, continuación, continuación en parte, sustitución o conversión de cualesquier solicitudes de Patente o Patentes, o cualquier re-emisión, prolongación o extensión de cualquier Certificado de Patente o Patentes que se obtengas para las mismas, firmar todos los papeles y documentos, declaraciones juradas, y efectuar todos los actos necesarios o requeridos para procurar, mantener, defender y mantener vigente los Certificados de Patente o Patentes para dicha invención, sin cargos para el Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados, pero con costos y gastos a cargo del Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados,.

Y el Cedente solicita por el presente al Comisionado de Patentes otorgar cualquier y todos los títulos de Patente al Cesionario como cesionario de dicha invención y los títulos de Patente otorgados o que se vayan a otorgar para la misma para el uso y a nombre del Cesionario, sus sucesores, representantes legales y asignados;

Y, el abajo firmante autoriza a un representante autorizado del Cesionario el poder para insertar en esta Cesión el número de solicitud y la fecha de presentación y cualquier identificación adicional que sea necesario o deseable para cumplir con las reglas de la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos para registrar esta Cesión.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, el Cedente ha firmado con su firma personal en la fecha indicada,

ELAN PHARMACEUTICALS, INC.

Fechado: 10/10/12

Por: (Firmado)

Nombre en imprenta: Atulya R. Agarwal

Cargo: Funcionario Jefe de Propiedad

Intelectual

FIRMADO EN PRESENCIA DE UN NOTARIO

RECONOCIMIENTO PARA TODO PROPÓSITO EN CALIFORNIA

(Sello)

Estado de California

Condado de San Mateo

El 10/10/2012 ante mí, Sushma Sanganeria-Brady, Notario Público, se presentó personalmente Atulya Agarwal, quien probó ante mí con base en evidencia satisfactoria ser la persona cuyo nombre aparece en la firma en el instrumento anexo y reconoció ante mí que firmó el mismo con toda su capacidad y autorización, y que mediante su firma en este instrumento la persona o la entidad que representa ejecutó este instrumento.

Yo certifico bajo la pena de perjurio según las leyes del Estado de California que el párrafo anterior es verdadero y correcto.

En testimonio firmo y pongo mi sello.

(Sello) SUSHMA SANGANERIA-BRADY

Comisión No. 1924050

Notario Público – California

Condado de San Mateo

Mi comisión expira el 2 de marzo de 2015.

Firma: (Firmado)

OPCIONAL

Aunque la información que sigue no es requerida por ley, puede ser valiosa a las personas relacionadas con el documento y podría impedir la remoción y adición fraudulentas de este formato en otro documento.

Descripción del documento adjunto

Título o tipo de documento: Cesión 61/553.131

Fecha del documento:

Número de páginas:

Firmante distinto del nombrado antes:

Cargo reclamado por el firmante

Nombre del Firmante:

Nombre del Firmante:

Funcionario de la Corporación

Cargo:

Funcionario de la Corporación

Cargo:

Individuo

Individuo

Socio Ltda. General

Socio Ltda. General

Apoderado

Apoderado

Fiador

Fiador

Guardián o Conservador

Guardián o Conservador

Otro:

Otro:

El Firmante representa a:

El Firmante representa a:

Huella del pulgar del firmante

Huella del pulgar del firmante