(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 431 914**

(21) Número de solicitud: 201200465

(51) Int. Cl.:

C07K 16/22 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) PATENTE DE INVENCIÓN CON EXAMEN PREVIO B2

(22) Fecha de presentación:

27.04.2012

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

28.11.2013

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

07.02.2014

Fecha de la concesión:

17.07.2014

(45) Fecha de publicación de la concesión:

24.07.2014

(56) Se remite a la solicitud internacional:

PCT/ES2013/000062

(73) Titular/es:

UNIVERSIDAD DE CÁDIZ (50.0%)
OTRI-Vicerrectorado de I+D+i C/ Benito Pérez Galdós, s/n
11002 Cádiz (Cádiz) ES y
CURAXYS S.L. (50.0%)

(72) Inventor/es:

SANCHEZ DE MELO, Iván ;
VILLEGAS MARTÍNEZ , Enrique ;
BOLIVAR PÉREZ, Jorge;
HERNÁNDEZ RUIZ , Laura ;
CASTRO GONZÁLEZ , Carmen ;
GARCIA COZAR, Francisco José;
PENDÓN MELÉNDEZ, Carlos;
CANTORAL FERNÁNDEZ, Jesús Manuel;
FERNÁNDEZ ACERO, Francisco Javier y
GARRIDO CRESPO, Carlos

(54) Título: **Anticuerpo monoclonal humano ANTI-HER2**

(57) Resumen:

Anticuerpo monoclonal humano anti-HER2.

La presente invención se refiere a un anticuerpo monoclonal humano que reconoce el dominio extracelular del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) y es producido en células de retina embriónica humana. Asimismo, la presente invención se refiere al uso de dicho anticuerpo para medir el nivel de expresión de HER2 y para la preparación de un medicamento para el tratamiento de trastornos neoplásicos que cursan con la sobreexpresión de HER2.

ES 2 431 914 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 40.2.8 LP.

DESCRIPCIÓN

ANTICUERPO MONOCLONAL HUMANO ANTI-HER2

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención pertenece al campo de la producción de proteínas recombinantes, más concretamente se refiere a un anticuerpo monoclonal humano que reconoce el dominio extracelular del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) y es producido en células de retina embriónica humana. Asimismo, la presente invención se refiere al uso de dicho anticuerpo, en particular para la preparación de un medicamento para el tratamiento de trastornos neoplásicos que cursan con la sobreexpresión de HER2.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La mayoría de los anticuerpos terapéuticos desarrollados como agentes médicos son isotipos humanos IgG1 incluyendo IgG1 quimérica ratón/humano, humanizada y humana. La IgG1 humana es una glicoproteína que tiene en la mayoría de los casos dos glicosilaciones tipo complejo N-biantena unidos a la parte constante (Fc) del anticuerpo, en la cual la mayoría de los oligosacáridos están fucosilados. La IgG1 humana ejerce entre otras funciones, funciones efectoras en la Citotoxicidad Celular Dependiente de Anticuerpo (ADCC, *Antibody Dependent Celular Citotoxicity*) y en la Citotoxicidad Dependiente de Complemento (CDC, *Complement Dependent Citotoxicity*) a través de la interacción de la región Fc con cada uno de los receptores de los leucocitos (FcγRs) o el complemento. La eficacia de los anticuerpos terapéuticos resulta de la especificidad del antígeno diana y de las funciones efectoras del anticuerpo, las cuales son activadas por la formación de los complejos inmunes. Recientemente se ha demostrado que la respuesta ADCC y CDC es uno de los mayores mecanismos anti-neoplásicos responsables de la eficacia clínica de los anticuerpos terapéuticos.

Una de las características comunes de los anticuerpos terapéuticos usados en el tratamiento del cáncer es que su eficacia anti-tumoral requiere altas concentraciones séricas y una terapia continua durante varios meses. Los ciclos de tratamiento requieren, por tanto, varios gramos de anticuerpo terapéutico, resultando en una cantidad de droga significante y unos costes muy altos. De hecho, se requiere una alta dosis (2-8 mg kg^{-1}) de rituximab IgG1 anti-CD20 (Rituxan ®) o de trastuzumab IgG1 anti-Her2 (Herceptin ®) para

conseguir una concentración sérica efectiva de más de 10 μg mL^{-1}. A diferencia de estas dosis *in vivo*, la actividad citotóxica máxima *in vitro* vía ADCC de los anticuerpos terapéuticos se consigue con concentraciones de menos de 10 ng kg^{-1}. Esta discrepancia entre la eficacia *in vivo* e *in vitro* se debe principalmente a que la IgG sérica, aunque no afecta la capacidad de unión al antígeno del anticuerpo terapéutico, dificulta la unión del anticuerpo terapéutico con el receptor FcγRIIIa de las células NK inhibiendo la respuesta ADCC inducida por dichos anticuerpos. Se ha visto que los anticuerpos terapéuticos afucosilados (no fucosilados) pueden evadir dicho efecto inhibidor de la IgG plasmática humana sobre la ADCC.

La mayoría de anticuerpos terapéuticos actualmente permitidos en el mercado son producidos en líneas celulares de roedores como células de Ovario de Hámster Chino (CHO), mieloma de ratón NS0 y SP2/0 e hibridoma de ratón, estando casi todas las moléculas producidas por estas líneas celulares fucosiladas en los oligosacáridos de la Fc, lo que significa que la respuesta ADCC no es la óptima. Además, en el sistema celular CHO los enzimas encargados de llevar a cabo los procesos de glicosilación difieren de los humanos, como es el caso del enzima que realiza la adición de galactosa (GnTI, GnTII), muy activo y abundante en humanos a diferencia de los roedores. A este respecto, diferentes estudios han descrito que un aumento en el porcentaje de galactosilación resulta en una mejor respuesta CDC en IgG recombinantes, mientras que dicho aumento no tiene un efecto negativo en la respuesta ADCC.

El uso de células no humanas para la producción de proteínas recombinantes puede causar además otros problemas, como un plegamiento incorrecto de las proteínas que sucede durante o después de la traducción, el cual puede ser dependiente de la presencia de las proteínas chaperonas apropiadas. Un plegamiento aberrante puede conducir a una disminución o ausencia de actividad biológica de la proteína recombinante, a una disminución del tiempo de vida media en sangre e inclusive a un aumento de la inmunogenicidad. Además, es de gran importancia la expresión simultánea y en cantidades relativas correctas de aquellos polipéptidos que forman las distintas subunidades de proteínas con estructura cuaternaria, como son los anticuerpos. Los anticuerpos están formados por una unidad básica compuesta de dos cadenas polipeptídicas globulares pesadas y dos cadenas polipeptídicas ligeras unidas entre sí por puentes disulfuro. Ambas cadenas presentan una zona constante y una zona variable. En esta última, se encuentra una zona hipervariable formada por 10 a 15 aminoácidos responsables de la unión específica con el antígeno.

En cuanto a los anticuerpos terapéuticos para el tratamiento del cáncer, el Trastuzumab (comercializado por Roche como Herceptin®) es un anticuerpo monoclonal humanizado IgG1 que reconoce el dominio extracelular del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2). Este anticuerpo está diseñado para bloquear la ruta de proliferación activada por el receptor HER2, producido por un gen específico con potencial cancerígeno. La producción de dicho anticuerpo se lleva a cabo utilizando la línea celular CHO lo que puede conllevar los inconvenientes descritos anteriormente (disminución de la actividad biológica, aumento de la inmunogenicidad, etc.). Por lo tanto, sigue existiendo en el estado de la técnica la necesidad de conseguir un anticuerpo monoclonal humano anti-HER2 con un patrón de glicosilación que favorezca una mejor respuesta inmune.

OBJETO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere en un aspecto a un polipéptido caracterizado porque comprende la secuencia polipeptídica SEQ ID NO 1. Asimismo se refiere a la secuencias nucleotídica que codifica dicha secuencia SEQ ID NO 1 y a un vector que comprende dicha secuencia nucleotídica. También se refiere, en otro aspecto, a una célula de retina embrionaria humana caracterizada porque ha sido transfectada con dicho vector.

Otro aspecto de la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal humano que reconoce HER2 caracterizado porque es producido por dicha célula de retina embrionaria humana. Y se refiere también a una inmunotoxina que comprende un conjugado de dicho anticuerpo y al menos un agente citotóxico. Asimismo se refiere a un kit que comprende dicho anticuerpo o dicha inmunotoxina.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Asimismo, se refiere a una composición farmacéutica que comprende una inmunotoxina que comprende un conjugado de dicho anticuerpo con al menos un agente citotóxico, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención se refiere, en otro aspecto, al uso de dicho anticuerpo para medir el nivel de expresión de HER2. Asimismo, se refiere al uso de dicho anticuerpo para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neoplásico que cursa con la sobreexpresión de HER2. También, se refiere al uso de una inmunotoxina que comprende un conjugado de dicho anticuerpo y al menos un agente citotóxico, para la

preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neoplásico que cursa con la sobreexpresión de HER2.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 muestra un ensayo de unión del anticuerpo CRX01 (anticuerpo monoclonal humano anti-HER2 producidos en células PER.C6® cuyas cadenas pesadas comprenden la SEQ ID NO 1, cuyas cadenas ligeras comprenden la SEQ ID NO 4 y cuyo perfil de glicosilación comprende un porcentaje de afucosilación menor o igual al 4% y un porcentaje de galactosilación mayor o igual al 35%) y Herceptin® realizado mediante *Western Blot* en condiciones reductoras utilizando como anticuerpo primario CRX01 (A) o Herceptin® (B), ambos a una concentración de 5 µg/ml, y como anticuerpo secundario peroxidasa anti-IgG humana a una dilución 1:20.000. Se cargaron 300 ng de un péptido correspondiente al dominio extracelular de la proteína HER2 conjugado a la proteína GST, que tiene un peso molecular total de 35 kDa. Como control negativo se cargo un extracto de células JKT. El *Western Blot* muestra que CRX01 es capaz de unirse en condiciones reductoras a HER2, pudiendo bloquear su actividad.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Un aspecto de la presente invención se refiere a un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO 1. Asimismo, se refiere a una molécula de ADN, ADNc o ARN que comprende la secuencia que codifica el polipéptido de SEQ ID NO 1. En una realización particular, dicha molécula de ADN comprende la secuencia SEQ ID NO 2.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un vector que comprende una molécula de ADN que codifica un polipéptido que comprende la secuencia SEQ ID NO 1, en una realización particular dicho vector comprende la SEQ ID NO 2. En otra realización particular dicho vector comprende además una secuencia nucleotídica que codifica un polipéptido de secuencia SEQ ID NO 4, comprendiendo dicho dicha secuencia nucleotídica, en una realización particular, la secuencia nucleotídica SEQ ID NO 5. En una realización particular, el vector comprende la secuencia nucleotídica SEQ ID NO 3. En otra realización particular, dicho vector tiene la secuencia SEQ ID NO 3.

Los anticuerpos están formados por una unidad básica compuesta de dos cadenas polipeptídicas globulares pesadas (referidas también como cadenas pesadas) y dos cadenas polipeptídicas ligeras (referidas también como cadenas ligeras) unidas entre sí por puentes disulfuro. Ambas cadenas (pesadas y ligeras) presentan una zona constante y una zona variable. La secuencia SEQ ID NO 1 codifica cada una de las cadenas polipeptídicas pesadas del anticuerpo monoclonal humano anti-HER2 objeto de la presente invención (ver más adelante) y la secuencia SEQ ID NO 4 codifica cada una de las cadenas polipeptídicas ligeras de dicho anticuerpo. Cabe destacar que en la secuencia polipeptídica de las cadenas pesadas la secuencia los residuos 359 y 361 del dominio constante son ácido aspártico (D) y leucina (L), respectivamente, correspondiendo al alotipo G1m17.1;Km3.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una célula de retina embriónica humana (en adelante célula de la invención) caracterizada porque es transfectada con un vector que comprende una molécula de ADN que codifica un polipéptido que comprende la secuencia SEQ ID NO 1. En una realización particular, la célula de la invención es transfectada con un vector que codifica un polipéptido que comprende la secuencia SEQ ID NO 1 y un polipéptido que comprende la secuencia SEQ ID NO 4. En otra realización particular, la célula de la invención es transfectada con un vector que comprende la secuencia nucleotídica SEQ ID NO 3. En otra realización particular, la célula de la invención es la célula PER.C6® (Crucell, Percivia), depositada en la *European Collection of Cell Cultures* (ECACC) con el número 96022940 (patentes ES 2333425 T3 y EP 1445322 B1 del titular Crucell Holland B.V.). En una realización particular, la célula de la invención es la célula ECACC 96022940 transfectadada con el vector que comprende la SEQ ID NO 3. En una realización particular, dicho vector es transfectado tras ser linealizado, en particular mediante digestión enzimática con el enzima de restricción ScaI. Dicha célula ECACC 96022940 transfectada con el vector de secuencia SEQ ID NO 3 linealizado con ScaI está depositada según el Tratado de Budapest en la institución *Health Protection Agency Culture Collections* (HPACC) con el número de depósito 12030701.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un anticuerpo monoclonal humano que reconoce a HER2 (en adelante anticuerpo de la invención) es producido por la célula de la invención. Dicho anticuerpo anti-HER2 reconoce HER2 tal y como se muestra en la Figura 1. En los términos de la presente invención se entiende por "anticuerpo monoclonal recombinante humano", también referido como "anticuerpo monoclonal humano", todo aquel anticuerpo monoclonal producido en células humanas a través de la tecnología del ADN recombinante. La producción en células humanas conlleva la importante ventaja de que los anticuerpos producidos presentan un perfil de glicosilación humano y pueden ser por tanto

menos inmunogénicos que los producidos en células no humanas. En una realización particular, el anticuerpo de la invención se caracteriza porque tiene un perfil de glicosilación que comprende un porcentaje de afucosilación menor o igual al 4%. En otra realización particular, el anticuerpo de la invención tiene un perfil de glicosilación que comprende un porcentaje de galactosilación mayor o igual al 35%. En otra realización particular, el anticuerpo de la invención tiene un perfil de glicosilación que comprende un porcentaje de afucosilación menor o igual al 4% y un porcentaje de galactosilación mayor o igual al 35%, y de manera más particular, dicho porcentaje de afucosilación es menor o igual al 3,5% y dicho porcentaje de galactosilación es mayor o igual al 40%, y de manera aún más particular dicho porcentaje de afucosilación es menor o igual al 3% y dicho porcentaje de galactosilación es mayor o igual al 45%. Estos porcentajes de fucosilación y galactosilación suponen una importante ventaja ya que menores niveles de fucosilación han sido vinculados con una mejor respuesta ADCC, mientras que mayores niveles de galactosilación han sido vinculados con una mejor respuesta CDC, lo cual permite que dichos anticuerpos sean administrados en dosis menores.

Otro aspecto de la invención se refiere a un kit que comprende el anticuerpo de la invención según se ha definido en el párrafo anterior.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una inmunotoxina que comprende un conjugado del anticuerpo de la invención según se ha definido anteriormente, y al menos un agente citotóxico. Refiriéndose la invención también, en otro aspecto, al kit que comprende dicha inmunotoxina.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de la invención según se ha definido anteriormente, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Asimismo, se refiere a una composición farmacéutica que comprende una inmunotoxina que comprende un conjugado del anticuerpo de la invención según se ha definido anteriormente y al menos un agente citotóxico, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención en otro aspecto se refiere al uso del anticuerpo de la invención para medir el nivel de expresión de la proteína HER2. Asimismo, se refiere al uso del anticuerpo de la invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neoplásico que cursa con la sobreexpresión de HER2. En una realización particular, dicho trastorno neoplásico que cursa con la sobreexpresión de HER2 es cáncer de mama HER2-positivo.

Un último aspecto de la presente invención se refiere al uso de una inmunotoxina que comprende un conjugado del anticuerpo de la invención según se ha definido anteriormente y al menos un agente citotóxico, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neoplásico que cursa con la sobreexpresión de HER2. En una realización particular, dicho trastorno neoplásico que cursa con la sobreexpresión de HER2 es cáncer de mama HER2-positivo.

DEPÓSITO DE MATERIA BIOLÓGICA

La línea celular ECACC con el número 96022940 (PER.C6®) transfectada con el vector v074 (SEQ ID NO 3) linealizado mediante digestión enzimática con ScaI ha sido depositada en la institución *Health Protection Agency Culture Collections* (HPACC, Porton Down, Salisbury, Wiltshire, SP4 0JG, Reino Unido) el 7 de marzo de 2012, con el número de depósito 12030701.

Ejemplos

A continuación se detallan unos ejemplos concretos de realización de la invención que sirven para ilustrar la invención.
En los presentes ejemplos, como se ha mencionado anteriormente, CRX01 hace referencia a un anticuerpo monoclonal humano anti-HER2 cuyas cadenas pesadas comprenden la SEQ ID NO 1, cuyas cadenas ligeras comprenden la SEQ ID NO 4, y cuyo perfil de glicosilación comprende un porcentaje de afucosilación menor o igual al 4% y un porcentaje de galactosilación mayor o igual al 35%.

Ejemplo 1. Generación de clones productores del anticuerpo CRX01

Cultivo de las células PER.C6®
En todo el proceso de cultivo, las células PER.C6® fueron crecidas en medio PerMab (Thermo Fisher Scientific / HyClone, número de catálogo SH30871.01), que está especialmente diseñado para permitir el crecimiento de células en alta densidad. El medio PerMab se completó con la adición del aminoácido glutamina (Ajinomoto) 3mM y del detergente ácido plurónico F-68 (Sigma, número de catálogo P1300) al 1% y en ningún caso se añadió ningún tipo de suero al medio. Dicho medio PerMab complementado con glutamina y ácido plurónico también se denomina "medio completo" de aquí en adelante.

El proceso de cultivo comenzó con la descongelación de un vial de células PER.C6® (Crucell) y su cultivo en medio completo durante una semana en *T-Flask* 75 cm^2 (Corning) en condiciones estáticas. A continuación las células fueron adaptadas a agitación para lo cual se cultivaron en *Shake Flask* 250 ml (Corning) a 75 rpm en un agitador orbital.
El cultivo fue sub-cultivado de forma general cada 3 ó 4 días sembrándose 0,5 x 10^6 células viables/ml, excepto en los ensayos de producción en Batch en los que se sembraron inicialmente 1 x 10^6 células viables/ml.

Transfección de la línea celular PER.C6® con el vector de secuencia SEQ ID NO 3 (vector v074).
Dos días antes de la transfección las células fueron pasadas mediante centrifugación para cambiar completamente el medio y se sembraron 0,7x10^6 células viables/ml. Se transfectaron 5x10^6 células viables PER.C6® procedentes de cultivo en *Shake Flask*, con 5 µg del vector de expresión v074, que codifica la cadena pesada y ligera del anticuerpo monoclonal CRX01. El vector v074 fue transfectado en forma circular y lineal (digerido con el enzima de restricción ScaI y purificado con QIAquick columns (QIAGEN)) obteniéndose dos *pool* estables de células expresando CRX01 que fueron denominadas *pool* estable PER.C6-CRX01-circular y *pool* estable PER.C6-CRX01-lineal, respectivamente. La transfección se realizó mediante electroporación utilizando el kit V nucleofector y el aparato de transfección AMAXA con el programa X001.
Una vez realizada la transfección, se determinó la densidad celular y se sembraron en *T-Flask* 0,5x10^6 células/ml en medio PerMab libre de suero suplementado con 3mM glutamina y 1% ácido plurónico F-68 (medio completo) sin geneticina. Además se realizó un control negativo de la transfección.
A las 48 horas desde la transfección el cultivo fue resembrado a una concentración de 0,5x10^6 células viables/ml en *T-Flask* cambiando el medio completamente y suplementándolo con 3mM glutamina, 1% ácido plurónico F-68 y 125 µg geneticina (G418, Invitrogen).
Desde este punto y durante dos semanas se sub-cultivó, sembrándose 0,3x10^6 células viable/ml y renovando el medio PerMab suplementado con 3mM glutamina, 1% ácido plurónico F-68 y 125 µg G418.
Los niveles de viabilidad cayeron hasta un 20% en ambas transfecciones. Cuando los parámetros de crecimiento y viabilidad comenzaron a mejorar, aproximadamente a partir del día 15, el cultivo ya se consideró como estable. Desde ese momento, el *pool* estable de células expresando el vector v074 fue sub-cultivado cada 3 ó 4 días mediante dilución en *T-Flask* sembrando 0,5x10^6 células viables/ml y renovando el medio PerMab suplementado con 3mM glutamina, 1% ácido plurónico F-68 y 125 µg G418.

Generación de un *Master Cell Bank* (MCB) y un *Working Cell Bank* (WCB) del *pool* estable Per.C6-CRX01-lineal y del *pool* estable Per.C6-CRX01-circular

Cuando la viabilidad superó el 85% se generó un MCB de ambos *pools* estables en medio PerMab suplementado con 3 mM glutamina y 1% ácido plurónico F-68. Este MCB fue generado en condiciones estáticas.

A continuación se descongeló una alícuota del MCB de ambos *pools* y se cultivó en condiciones estáticas durante la primera semana en medio PerMab suplementado con 3mM glutamina y 1% de ácido plurónico, a partir de la cual las células fueron adaptadas a agitación a 75 rpm utilizando el mismo medio de cultivo suplementado con G418. Cuando los parámetros de viabilidad estuvieron por encima del 90% y los tiempos de duplicación estuvieron entre 30 y 40 horas se generó el WCB de ambos *pools* estables.

Selección de clones productores del anticuerpo CRX01

Para seleccionar clones súper-productores del anticuerpo CRX01 se realizó un proceso de dilución límite, que consistió en sembrar entre 0,5 y 1 células por pocillo en placas de 96 pocillos, a partir de aquí se llevaron a cabo dos *screenings* de cada uno de los *pools* estables, circular y lineal. Un primer *screening* en placas de 96 pocillos de donde se eligieron los 24 clones más productivos. Dichos clones fueron sometidos a un segundo *screening* en *T-Flask* de 25 cm^2, del cual se eligieron los 4 clones que más CRX01 produjeron, llamados PER.C6-CRX01-Lin45, PER.C6-CRX01-Lin90, PER.C6-CRX01-Circ49, PER.C6-CRX01-Circ103.

Ejemplo 2.- Afucosilación y galactosilación del anticuerpo CRX01.

Se ha llevado a cabo un estudio comparativo del porcentaje de afucosilación y galactosilación de Herceptin y de CRX01 producidos en células PER.C6® siguiendo las instrucciones de la compañia distribuidora de las células PER.C6® (Percivia) y descritas en el ejemplo anterior. Para ello, se ha llevado a cabo un ensayo de liberación enzimática de los glicanos, seguido de marcaje fluorescente y análisis mediante UPLC (cromatografía líquida de alta eficacia). Los N-glicanos fueron liberados de las muestras de IgG mediante incubación *overnight* con N-glicosidasa F (Prozyme, Hayward, CA). Los glicanos liberados fueron recuperados en el sobrenadante seco tras la precipitación de la proteína con etanol al 75%. Los oligosacáridos fueron marcados con el fluoróforo 2-aminobenzamida (2AB, Prozyme) y analizados utilizando "Acquity UPLC® BEH glycan column" (Waters) siguiendo las instrucciones del fabricante. Con los datos obtenidos, se calcularon los porcentajes de afucosilación y galactosilación según las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ afucosilación} = \frac{G0+G1+G2}{G0+G0F+G1+G1F+G2+G2F} \times 100$$

$$\% \text{ galactosilación} = \frac{G1F+(2 \times G2F)}{2 \times (G0F+G1F+G2F)} \times 100$$

G0, G1 y G2 se refieren a estructuras compleja, neutral, biantena con 0, 1 y 2 residuos terminales de galactosa, mientras que G0F, G1F y G2F son las correspondientes estructuras fucosiladas. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1, donde se observa que el porcentaje de afucosilación en CRX01 (obtenido de distintos clones PER.C6-CRX01 tanto lineales como circulares) es menor que el porcentaje de afucosilación en Herceptin. En concreto, el porcentaje de afucosilación en CRX01 es menor al 4%, mientras que el de Herceptin es del 5%. En cuanto al porcentaje de galactosilación, el mismo es superior en CRX01 que en Herceptin, siendo dicho porcentaje superior al 40% en CRX01, mientras que en Herceptin no supera el 25%.

Tabla 1.- Porcentaje afucosilación y galactosilación de CRX01 y Herceptin.

	% Afucosilación	% Galactosilación
Herceptin	5	24,5
CRX01_Lin45	3,46	48,1
CRX01_Lin90	1,5	52,6
CRX01_Circ49	3,2	56,7
CRX01_Circ103	3,15	55,3

REIVINDICACIONES

1. Célula de retina embriónica humana caracterizada porque es transfectada con un vector que comprende una molécula de ADN que codifica un polipéptido que comprende la secuencia SEQ ID NO 1.

2. Célula según reivindicación 1, caracterizada porque es transfectada con un vector que codifica un polipéptido que comprende la secuencia SEQ ID NO 1 y un polipéptido que comprende la secuencia SEQ ID NO 4.

3. Célula según la reivindicación 2 que ha sido transfectada con un vector que comprende la secuencia nucleotídica SEQ ID NO 3.

4. Célula según reivindicación 3 donde la célula de retina embriónica humana es la célula ECAAC No. 96022940.

5. Célula según la reivindicación 4 depositada en la HPACC con el número de depósito 12030701.

6. Anticuerpo monoclonal humano que reconoce el dominio extracelular del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) caracterizado porque es producido por una célula según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5.

7. Anticuerpo según la reivindicación 6 con un perfil de glicosilación que comprende un porcentaje de afucosilación menor o igual al 4%.

8. Anticuerpo según la reivindicación 6 con un perfil de glicosilación que comprende un porcentaje de galactosilación mayor o igual al 35%.

9. Anticuerpo según la reivindicación 6 con un perfil de glicosilación que comprende un porcentaje de afucosilación menor o igual al 4% y un porcentaje de galactosilación mayor o igual al 35%.

10. Inmunotoxina que comprende un conjugado de un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 6 -9, y al menos un agente citotóxico.

11. Composición farmacéutica que comprende un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 6-9 o una inmunotoxina según la reivindicación 10, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

12. Uso de un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9 para la detección del nivel de expresión de la proteína HER2.

13. Uso de un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9 o una inmunotoxina según la reivindicación 10 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neoplásico que cursa con la sobreexpresión de HER2.

14. Uso de un anticuerpo según la reivindicación 13 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer de mama HER2-positivo.

15. Uso de una inmunotoxina según la reivindicación 13 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer de mama HER2-positivo.

16. Kit que comprende un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9 o una inmunotoxina según la reivindicación 10.

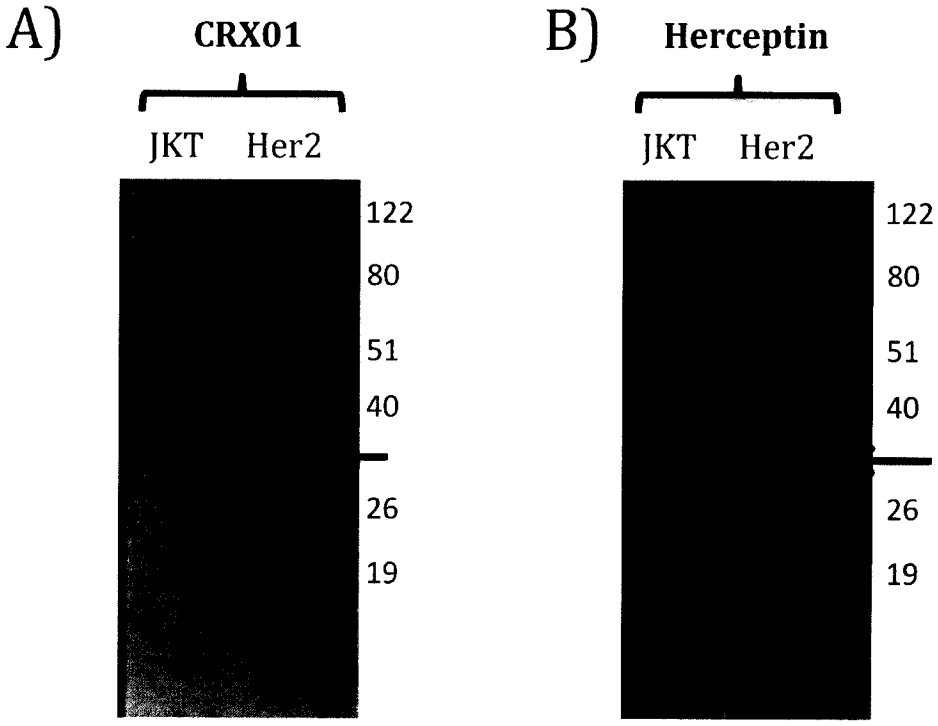
A)
CRX01
JKT
Her2
122
80
51
40
26
19
B)
Herceptin
JKT
Her2
122
80
51
40
26
19

FIG. 1

LISTA DE SECUENCIAS

<110> curaxys

<120> Anticuerpo monoclonal humano anti-HER2

<130> 198/11

<160> 5

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Secuencia aminoac'dica de la cadena pesada de CRX01

<400> 1

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 Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
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 Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

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

Lys Thr Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
340 345 350

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

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Ile Ser
385 390 395 400

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
405 410 415

Ser Pro Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 2
<211> 1350
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Secuencia ADN que codifica la cadena pesada del anticuerpo CRX01

<400> 2
gaggtgcagc tggtcgagtc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggctc cctgcggctg 60

tcctgcgccg cctccggctt caacatcaag gacacctaca tccactgggt gcggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtggcccgg atctacccta ccaacggcta caccagatac 180

gccgactccg tgaagggccg gttcaccatc tccgccgaca cctccaagaa caccgcctac 240

ctgcagatga actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgctc cagatggggc 300

ggagatggct tctacgccat ggactactgg ggccagggca ccctggtgac cgtgtcctcc 360

gctagcacca agggcccttc cgtgttccct ctggcccctt cctccaagtc cacctccggc 420

ggcaccgccg ctctgggctg cctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgagc 480

tggaactctg gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc 540

ggcctgtact ccctgtcctc cgtggtgaca gtgccttcct cctccctggg cacccagacc 600

tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct 660

aagtcctgcg acaagaccca cacctgccct ccctgccctg cccctgagct gctgggcgga 720

ccctccgtgt tcctgttccc tcctaagcct aaggacaccc tgatgatctc ccggacccct 780

gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgtcc cacgaggacc cagaggtgaa gttcaattgg 840

tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ctcgggagga acagtacaac 900

tccacctacc gggtggtgtc cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag 960

gaatacaagt gcaaggtgtc caacaaggcc ctgcctgccc ccatcgaaaa gactcctgtg 1020

ctggactccg acggctcctt cttcctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtgggacgag 1080

ctgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtgaagg gcttctaccc ttccgatatc 1140

gccgtggagt gggagtccaa cggccagcct gagaacaact acaagaccac ccccatctcc 1200

aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacaccc tgcctccctc cccccggtgg 1260

cagcagggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg ccctgcacaa ccactacacc 1320

cagaagtccc tgtccctgag ccctggcaag 1350

<210> 3
<211> 8841
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> secuencia ADN del vector v074

<400> 3
tactcttcct ttttcaatat tattgaagca tttatcaggg ttattgtctc atgagcggat 60

acatatttga atgtatttag aaaaataaac aaataggggt tccgcgcaca tttccccgaa 120
aagtgccacc tgacgtcgac ggatcgggag atctcccgat cccctatggt gcactctcag 180
tacaatctgc tctgatgccg catagttaag ccagtatctg ctccctgctt gtgtgttgga 240
ggtcgctgag tagtgcgcga gcaaaattta agctacaaca aggcaaggct tgaccgacaa 300
ttgcatgaag aatctgctta gggttaggcg ttttgcgctg cttcgctagg tggtcaatat 360
tggccattag ccatattatt cattggttat atagcataaa tcaatattgg ctattggcca 420
ttgcatacgt tgtatccata tcataatatg tacatttata ttggctcatg tccaacatta 480
ccgccatgtt gacattgatt attgactagt tattaatagt aatcaattac ggggtcatta 540
gttcatagcc catatatgga gttccgcgtt acataactta cggtaaatgg cccgcctggc 600
tgaccgccca acgacccccg cccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg 660
ccaataggga ctttccattg acgtcaatgg gtggagtatt tacggtaaac tgcccacttg 720
gcagtacatc aagtgtatca tatgccaagt acgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa 780
tggcccgcct ggcattatgc ccagtacatg accttatggg actttcctac ttggcagtac 840
atctacgtat tagtcatcgc tattaccatg gtgatgcggt tttggcagta catcaatggg 900
cgtggatagc ggtttgactc acggggattt ccaagtctcc accccattga cgtcaatggg 960
agtttgtttt ggcaccaaaa tcaacgggac tttccaaaat gtcgtaacaa ctccgcccca 1020
ttgacgcaaa tgggcggtag gcgtgtacgg tgggaggtct atataagcag agctcgttta 1080
gtgaaccgtc agatcgcctg gagacgccat ccacgctgtt ttgacctcca tagaagacac 1140
cgggaccgat ccagcctccg cggccgggaa cggtgcattg gaagcttggt accgagctcg 1200
gatccgccac catggagtgg tccggcgtgt tcatgttcct gctgtccgtg accgctggcg 1260
tgcactccga ggtgcagctg gtcgagtctg gcggcggact ggtgcagcct ggcggctccc 1320
tgcggctgtc ctgcgccgcc tccggcttca acatcaagga cacctacatc cactgggtgc 1380
ggcaggcccc tggcaagggc ctggagtggg tggcccggat ctaccctacc aacggctaca 1440
ccagatacgc cgactccgtg aagggccggt tcaccatctc cgccgacacc tccaagaaca 1500
ccgcctacct gcagatgaac tccctgcggg ccgaggacac cgccgtgtac tactgctcca 1560
gatggggcgg agatggcttc tacgccatgg actactgggg ccagggcacc ctggtgaccg 1620
tgtcctccgc tagcaccaag ggcccttccg tgttccctct ggccccttcc tccaagtcca 1680
cctccggcgg caccgccgct ctgggctgcc tggtgaagga ctacttccct gagcctgtga 1740
ccgtgagctg gaactctggc gccctgacca gcggcgtgca caccttccct gccgtgctgc 1800
agtcctccgg cctgtactcc ctgtcctccg tggtgacagt gccttcctcc tccctgggca 1860
cccagaccta catctgcaac gtgaaccaca agccttccaa caccaaggtg gacaagaagg 1920
tggagcctaa gtcctgcgac aagacccaca cctgccctcc ctgccctgcc cctgagctgc 1980
tgggcggacc ctccgtgttc ctgttccctc ctaagcctaa ggacaccctg atgatctccc 2040
ggacccctga ggtgacctgc gtggtggtgg acgtgtccca cgaggaccca gaggtgaagt 2100

tcaattggta cgtggacggc gtggaggtgc acaacgccaa gaccaagcct cgggaggaac 2160
agtacaactc cacctaccgg gtggtgtccg tgctgaccgt gctgcaccag gactggctga 2220
acggcaagga atacaagtgc aaggtgtcca acaaggccct gcctgccccc atcgaaaaga 2280
ccatctccaa ggccaagggc cagcctcgcg agcctcaggt gtacaccctg cctccctccc 2340
gggacgagct gaccaagaac caggtgtccc tgacctgtct ggtgaagggc ttctaccctt 2400
ccgatatcgc cgtggagtgg gagtccaacg gccagcctga gaacaactac aagaccaccc 2460
ctcctgtgct ggactccgac ggctccttct tcctgtactc caagctgacc gtggacaagt 2520
cccggtggca gcagggcaac gtgttctcct gctccgtgat gcacgaggcc ctgcacaacc 2580
actacaccca gaagtccctg tccctgagcc ctggcaagtg ataatctagc gaattcaccg 2640
gtaccaagct taagtttaaa ccgctgatca gcctcgactg tgccttctag ttgccagcca 2700
tctgttgttt gcccctcccc cgtgccttcc ttgaccctgg aaggtgccac tcccactgtc 2760
ctttcctaat aaaatgagga aattgcatcg cattgtctga gtaggtgtca ttctattctg 2820
gggggtgggg tggggcagga cagcaagggg gaggattggg aagacaatag caggcatgct 2880
ggggatgcgg tgggctctat ggcttctgag gcggaaagaa ccagctgggg ctctaggggg 2940
tatccccacg cgccctgtag cggcgcatta agcgcggcgg gtgtggtggt tacgcgcagc 3000
gtgaccgcta cacttgccag cgcctagcgc ccgctccttt cgctttcttc ccttcctttc 3060
tcgccacgtt cgccggcttt ccccgtcaag ctctaaatcg ggggctccct ttagggttcc 3120
gatttagtgc tttacggcac ctcgacccca aaaaacttga ttagggtgat ggttcacgta 3180
gtgggccatc gccctgatag acggtttttc gccctttgac gttggagtcc acgttcttta 3240
atagtggact cttgttccaa actggaacaa cactcaaccc tatctcggtc tattcttttg 3300
atttataagg gattttgccg atttcggcct attggttaaa aaatgagctg atttaacaaa 3360
aatttaacgc gaattaattc tgtggaatgt gtgtcagtta gggtgtggaa agtccccagg 3420
ctccccagca ggcagaagta tgcaaagcat gcatctcaat tagtcagcaa ccaggtgtgg 3480
aaagtcccca ggctccccag caggcagaag tatgcaaagc atgcatctca attagtcagc 3540
aaccatagtc ccgcccctaa ctccgcccat cccgccccta actccgccca gttccgccca 3600
ttctccgccc catggctgac taatttttt tatttatgca gaggccgagg ccgcctctgc 3660
ctctgagcta ttccagaagt agtgaggagg ctttttgga ggcctaggct tttgcaaaaa 3720
gctcccggga gcttggatat ccattttcgg atctgatcaa gagacaggat gaggatcgtt 3780
tcgcatgatt gaacaagatg gattgcacgc aggttctccg gccgcttggg tggagaggct 3840
attcggctat gactgggcac aacagacaat cggctgctct gatgccgccg tgttccggct 3900
gtcagcgcag gggcgcccgg ttctttttgt caagaccgac ctgtccggtg ccctgaatga 3960
actgcaggac gaggcagcgc ggctatcgtg gctggccacg acgggcgttc cttgcgcagc 4020
tgtgctcgac gttgtcactg aagcgggaag ggactggctg ctattgggcg aagtgccggg 4080
gcaggatctc ctgtcatctc accttgctcc tgccgagaaa gtatccatca tggctgatgc 4140

aatgcggcgg ctgcatacgc ttgatccggc tacctgccca ttcgaccacc aagcgaaaca 4200
tcgcatcgag cgagcacgta ctcggatgga agccggtctt gtcgatcagg atgatctgga 4260
cgaagagcat caggggctcg cgccagccga actgttcgcc aggctcaagg cgcgcatgcc 4320
cgacggcgag gatctcgtcg tgacccatgg cgatgcctgc ttgccgaata tcatggtgga 4380
aaatggccgc ttttctggat tcatcgactg tggccggctg ggtgtggcgg accgctatca 4440
ggacatagcg ttggctaccc gtgatattgc tgaagagctt ggcggcgaat gggctgaccg 4500
cttcctcgtg ctttacggta tcgccgctcc cgattcgcag cgcatcgcct tctatcgcct 4560
tcttgacgag ttcttctgag cgggactctg gggttcggtg ctacgagatt tcgattccac 4620
cgccgccttc tatgaaaggt tgggcttcgg aatcgttttc cgggacgccg gctggatgat 4680
cctccagcgc ggggatctca tgctggagtt cttcgcccac cccaacttgt ttattgcagc 4740
ttataatggt tacaaataaa gcaatagcat cacaaatttc acaaataaag catttttttc 4800
actgcattct agttgtggtt tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg tctgtatacc 4860
gtcgacctct agctagagct tggcgtaatc atggtcatag ctgtttcctg tgtgaaattg 4920
ttatccgctc acaattccac acaacatacg agccggaagc ataaagtgta aagcctgggg 4980
tgcctaatga gtgagctaac tcacattaat tgcgttgcgc tcactgcccg ctttccagtc 5040
gggaaacctg tcgtgccaga attgcatgaa gaatctgctt agggttaggc gttttgcgct 5100
gcttcgctag gtggtcaata ttggccatta gccatattat tcattggtta tatagcataa 5160
atcaatattg gctattggcc attgcatacg ttgtatccat atcataatat gtacatttat 5220
attggctcat gtccaacatt accgccatgt tgacattgat tattgactag ttattaatag 5280
taatcaatta cggggtcatt agttcatagc ccatatatgg agttccgcgt tacataactt 5340
acggtaaatg gcccgcctgg ctgaccgccc aacgaccccc gcccattgac gtcaataatg 5400
acgtatgttc ccatagtaac gccaataggg actttccatt gacgtcaatg ggtggagtat 5460
ttacggtaaa ctgcccactt ggcagtacat caagtgtatc atatgccaag tacgccccct 5520
attgacgtca atgacggtaa atggcccgcc tggcattatg cccagtacat gaccttatgg 5580
gactttccta cttggcagta catctacgta ttagtcatcg ctattaccat ggtgatgcgg 5640
ttttggcagt acatcaatgg gcgtggatag cggtttgact cacggggatt tccaagtctc 5700
caccccattg acgtcaatgg gagtttgttt tggcaccaaa atcaacggga ctttccaaaa 5760
tgtcgtaaca actccgcccc attgacgcaa atgggcggta ggcgtgtacg gtgggaggtc 5820
tatataagca gagctcgttt agtgaaccgt cagatcgcct ggagacgcca tccacgctgt 5880
tttgacctcc atagaagaca ccgggaccga tccagcctcc gcggccggga acggtgcatt 5940
ggaagcttgg taccggtgaa ttcggcgcgc caccatggag tggtccggcg tgttcatgtt 6000
cctgctgtcc gtgaccgctg gcgtgcactc cgacatccag atgacccagt ccccctcctc 6060
cctgtccgcc tccgtgggcg accgggtgac catcacctgc cgggcctccc aggacgtgaa 6120
caccgccgtg gcctggtatc agcagaagcc tggcaaggcc cctaagctgc tgatctactc 6180

cgcctccttc ctgtactccg gcgtgccttc ccggttctcc ggctcccggt ccggcaccga 6240
cttcaccctg accatctcct ccctgcagcc tgaggacttc gccacctact actgccagca 6300
gcactacacc acccctccta ccttcggcca gggcaccaag gtggagatca agcggaccgt 6360
ggccgctcct tccgtgttca tcttccctcc ctccgacgag cagctgaaga gcggcaccgc 6420
cagcgtggtg tgcctgctga acaacttcta ccctcgggag gccaaggtgc agtggaaggt 6480
ggacaacgcc ctgcagtccg gcaactccca ggaaagcgtc accgagcagg actccaagga 6540
cagcacctac tccctgtcct ccaccctgac cctgtccaag gccgactacg agaagcacaa 6600
ggtgtacgcc tgcgaggtga cccaccaggg cctgtccagc cctgtgacca agtccttcaa 6660
ccggggcgag tgctgatgag ttaacggatc gatccgagct cggtaccaag cttaagttta 6720
aaccgctgat cagcctcgac tgtgccttct agttgccagc catctgttgt ttgcccctcc 6780
cccgtgcctt ccttgaccct ggaaggtgcc actcccactg tcctttccta ataaaatgag 6840
gaaattgcat cgcattgtct gagtaggtgt cattctattc tggggggtgg ggtggggcag 6900
gacagcaagg gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg ctggggatgc ggtgggctct 6960
atggcttctg aggcggaaag aaccagctgc attaatgaat cggccaacgc gcggggagag 7020
gcggtttgcg tattgggcgc tcttccgctt cctcgctcac tgactcgctg cgctcggtcg 7080
ttcggctgcg gcgagcggta tcagctcact caaaggcggt aatacggtta tccacagaat 7140
caggggataa cgcaggaaag aacatgtgag caaaaggcca gcaaaaggcc aggaaccgta 7200
aaaaggccgc gttgctggcg tttttccata ggctccgccc ccctgacgag catcacaaaa 7260
atcgacgctc aagtcagagg tggcgaaacc cgacaggact ataaagatac caggcgtttc 7320
cccctggaag ctccctcgtg cgctctcctg ttccgaccct gccgcttacc ggatacctgt 7380
ccgcctttct cccttcggga agcgtggcgc tttctcatag ctcacgctgt aggtatctca 7440
gttcggtgta ggtcgttcgc tccaagctgg gctgtgtgca cgaacccccc gttcagcccg 7500
accgctgcgc cttatccggt aactatcgtc ttgagtccaa cccggtaaga cacgacttat 7560
cgccactggc agcagccact ggtaacagga ttagcagagc gaggtatgta ggcggtgcta 7620
cagagttctt gaagtggtgg cctaactacg gctacactag aagaacagta tttggtatct 7680
gcgctctgct gaagccagtt accttcggaa aaagagttgg tagctcttga tccggcaaac 7740
aaaccaccgc tggtagcggt ggtttttttg tttgcaagca gcagattacg cgcagaaaaa 7800
aaggatctca agaagatcct ttgatctttt ctacggggtc tgacgctcag tggaacgaaa 7860
actcacgtta agggattttg gtcatgagat tatcaaaaag gatcttcacc tagatccttt 7920
taaattaaaa atgaagtttt aaatcaatct aaagtatata tgagtaaact tggtctgaca 7980
gttaccaatg cttaatcagt gaggcaccta tctcagcgat ctgtctattt cgttcatcca 8040
tagttgcctg actccccgtc gtgtagataa ctacgatacg ggagggctta ccatctggcc 8100
ccagtgctgc aatgataccg cgagacccac gctcaccggc tccagattta tcagcaataa 8160
accagccagc cggaagggcc gagcgcagaa gtggtcctgc aactttatcc gcctccatcc 8220

agtctattaa ttgttgccgg gaagctagag taagtagttc gccagttaat agtttgcgca 8280

acgttgttgc cattgctaca ggcatcgtgg tgtcacgctc gtcgtttggt atggcttcat 8340

tcagctccgg ttcccaacga tcaaggcgag ttacatgatc ccccatgttg tgcaaaaaag 8400

cggttagctc cttcggtcct ccgatcgttg tcagaagtaa gttggccgca gtgttatcac 8460

tcatggttat ggcagcactg cataattctc ttactgtcat gccatccgta agatgctttt 8520

ctgtgactgg tgagtactca accaagtcat tctgagaata gtgtatgcgg cgaccgagtt 8580

gctcttgccc ggcgtcaata cgggataata ccgcgccaca tagcagaact ttaaaagtgc 8640

tcatcattgg aaaacgttct tcggggcgaa aactctcaag gatcttaccg ctgttgagat 8700

ccagttcgat gtaacccact cgtgcaccca actgatcttc agcatctttt actttcacca 8760

gcgtttctgg gtgagcaaaa acaggaaggc aaaatgccgc aaaaaaggga ataagggcga 8820

cacggaaatg ttgaatactc a 8841

<210> 4
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Secuencia aminoac'dica de la cadena ligera del anticuerpo CRX01.

<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 Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg 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 His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 5
<211> 642
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Secuencia ADN que codifica la cadena ligera del anticuerpo CRX01.

<400> 5
gacatccaga tgacccagtc cccctcctcc ctgtccgcct ccgtgggcga ccgggtgacc 60

atcacctgcc gggcctccca ggacgtgaac accgccgtgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctactcc gcctccttcc tgtactccgg cgtgccttcc 180

cggttctccg gctcccggtc cggcaccgac ttcaccctga ccatctcctc cctgcagcct 240

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag cactacacca cccctcctac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcggaccgtg gccgctcctt ccgtgttcat cttccctccc 360

tccgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420

cctcgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg caactcccag 480

gaaagcgtca ccgagcagga ctccaaggac agcacctact ccctgtcctc caccctgacc 540

ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ctgtgaccaa gtccttcaac cggggcgagt gc 642