

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 805 361**

51 Int. Cl.:

C07K 16/46 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 14/76 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.07.2013 PCT/US2013/050408**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.01.2014 WO14012082**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.07.2013 E 13816831 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.04.2020 EP 2906237**

54 Título: **Diseño y construcciones de andamios de heteromultímeros multivalentes**

30 Prioridad:

13.07.2012 US 201261671640 P

05.09.2012 US 201261697245 P

30.01.2013 US 201361758701 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

11.02.2021

73 Titular/es:

ZYMEWORKS INC. (100.0%)

540-1385 West 8th Avenue

Vancouver, British Columbia V6H 3V9, CA

72 Inventor/es:

DIXIT, SURJIT, BHIMARAO;

D'ANGELO, IGOR EDMONDO, PAOLO;

SANCHES, MARIO y

NG, GORDON YIU KON

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 805 361 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Diseño y construcciones de andamios de heteromultímeros multivalentes

5 Campo de la Invención

El campo de la invención es el diseño racional de un andamio para el desarrollo personalizado de bioterapéuticos.

Descripción de la Técnica Relacionada

10

En el ámbito de las proteínas terapéuticas, los anticuerpos con sus características de unión a dianas multivalentes son andamios excelentes para el diseño de candidatos a fármacos. Avanzando aún más en estas características, los anticuerpos biespecíficos diseñados y otras terapias multiespecíficas fusionadas exhiben especificidades de diana duales o múltiples y una oportunidad para crear fármacos con modos de acción novedosos. El desarrollo de tales

15

proteínas terapéuticas multiespecíficas y multivalentes con farmacocinética y actividad funcional favorables ha constituido un desafío.

La albúmina sérica humana (HSA o HA), una proteína de 585 aminoácidos en su forma madura, es responsable de una proporción significativa de la presión osmótica del suero y también funciona como vehículo de ligandos endógenos

20

y exógenos. El papel de la albúmina como molécula vehículo y su naturaleza estable son propiedades deseables para su uso como vehículo y transportador de polipéptidos in vivo.

La albúmina de suero humano posee muchas características deseables. La HSA se encuentra en todo el cuerpo, pero más específicamente en el espacio intersticial y en la sangre a concentraciones séricas de 40 g/L, que es equivalente a 0,7 mM (Yeh y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 1904-1908 (1992)). La HSA se considera la proteína más abundante del suero y es responsable de mantener la osmolaridad. La HSA tiene propiedades farmacocinéticas favorables y se elimina muy lentamente por el hígado y el riñón mostrando vidas medias in vivo de hasta varias semanas (Yeh y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 1904-1908 (1992); Waldmann, TA, Albumin Structure, Function and Uses, págs. 255-273 (1977); Sarav y col., J Am Soc Nephrol 20: 1941-1952 (2009)). La HSA carece de actividad

25

enzimática y antigenicidad, lo que elimina los efectos secundarios potencialmente indeseables. La HSA actúa como vehículo de ligandos endógenos y exógenos. También se sabe que la HSA penetra y se retiene en el intersticio de tumores (ver Elsadek y Kratz, J. Control. Release (2012) 157:4-28). La albúmina se ha propuesto como un vehículo farmacológico para proteínas terapéuticas (ver Kratz, J. Control. Release (2008) 132: 171-183) combinadas, estas características se pueden extender, al menos parcialmente, a la proteína de fusión basada en albúmina. Las pobres

30

propiedades farmacocinéticas mostradas por las proteínas terapéuticas se pueden eludir.

35

RESUMEN DE LA INVENCION

Un objeto de la presente invención es proporcionar andamios de heteromultímeros multivalentes y procedimientos para diseñarlos.

40

En un aspecto de la invención, se proporciona un heteromultímero que comprende: una primera construcción de polipéptido que comprende un primer polipéptido transportador y al menos una primera molécula de carga, opcionalmente donde la primera molécula de carga es un polipéptido de carga, opcionalmente donde la primera

45

construcción de polipéptido comprende dos primeros polipéptidos de carga; y una segunda construcción de polipéptido que comprende un segundo polipéptido transportador; y donde dichos primer y segundo polipéptidos transportadores se obtienen por segmentación de un polipéptido de albúmina que tiene la secuencia de SEQ ID NO:1 en un sitio de segmentación, y donde la ubicación del sitio de segmentación es:

50

- (a) entre los residuos 339 y 340 de la SEQ ID NO:1; o
- (b) entre los residuos 300 y 301 de la SEQ ID NO:1; o
- (c) entre los residuos 364 y 365 de la SEQ ID NO: 1; o
- (d) entre los residuos 441 y 442 de la SEQ ID NO: 1; o
- (e) entre los residuos 171 y 172 de la SEQ ID NO:1; o

55

- (f) entre los residuos 281 y 282 de la SEQ ID NO: 1; o
- (g) después del residuo 83 y antes del residuo 85 de la SEQ ID NO:1 y el residuo 84 es eliminado;

donde la numeración de residuos comienza con el primer residuo después de la secuencia de señal, y donde dicho primer polipéptido transportador es diferente de dicho segundo polipéptido transportador, y dichos polipéptidos

60

transportadores se autoensamblan para formar una estructura cuasi-nativa de la forma monomérica de dicho

polipéptido de albúmina.

Otro aspecto descrito en esta invención es un heteromultímero que comprende: una primera construcción de polipéptido que comprende (i) un primer polipéptido transportador; y (ii) al menos un primer polipéptido de carga que es una construcción de polipéptido de unión a antígeno que se une a CD3, CD19, CD20, HER2 o HER3, y una segunda construcción de polipéptido que comprende (iii) un segundo polipéptido transportador; y (iv) al menos un segundo polipéptido de carga donde cada uno de dichos polipéptidos transportadores primero y segundo comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 90 % de identidad con un segmento de un polipéptido de albúmina; y donde dichos primer y segundo polipéptidos transportadores se obtienen por segmentación de dicho polipéptido de albúmina en un sitio de segmentación, donde dichos polipéptidos transportadores se autoensamblan para formar una estructura cuasi-nativa de la forma monomérica de dicho polipéptido de albúmina.

En otro aspecto de la invención, se proporciona una célula huésped que comprende ácido nucleico que codifica el heteromultímero de la invención.

En otro aspecto de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un heteromultímero de la invención y un adyuvante.

En otro aspecto de la invención, se proporciona un procedimiento para tratar el cáncer que comprende proporcionar a un paciente que lo necesite una cantidad efectiva de la composición farmacéutica de la invención.

En otro aspecto de la invención, se proporciona un procedimiento para inhibir el crecimiento de un tumor, que comprende poner en contacto el tumor con una cantidad efectiva de un heteromultímero de la invención.

En otro aspecto de la invención, se proporciona un procedimiento para reducir un tumor, que comprende poner en contacto el tumor con una cantidad efectiva de un heteromultímero de la invención.

Otro aspecto descrito en esta invención es un procedimiento de diseño de polipéptidos autoasociantes a partir de una proteína de interés que comprende: segmentar dicha proteína en al menos un sitio de segmentación para obtener al menos dos segmentos de polipéptidos de manera que dichos segmentos de polipéptidos se autoensamblen para formar un heteromultímero, donde dicho heteromultímero forma una estructura monomérica cuasi-nativa de dicha proteína, el procedimiento comprendiendo las etapas de seleccionar al menos un lazo de la proteína de interés que tiene un área de superficie accesible al solvente alta y contacto limitado con el resto de la estructura de dicha proteína, e introduciendo un sitio de segmentación por lazo seleccionado, dando como resultado una interfaz complementaria entre los al menos dos segmentos de polipéptidos, donde la interfaz es apolar, extensa e interdigitada.

En otro aspecto, se proporciona un heteromultímero diseñado por un procedimiento de la invención.

En otro aspecto, se proporciona un andamio terapéutico que comprende un heteromultímero diseñado por un procedimiento de la invención.

En esta invención se proporcionan heteromultímeros multifuncionales de la invención y procedimientos para diseñarlos. En ciertas realizaciones, son heteromultímeros, cada heteromultímero que comprende: al menos una primera construcción de polipéptido que comprende al menos una molécula de carga, y un primer polipéptido transportador; y al menos una segunda construcción de polipéptido que comprende al menos una molécula de carga y un segundo polipéptido transportador; donde los polipéptidos transportadores se derivan por segmentación de una proteína tal que dichos polipéptidos transportadores se autoensamblen para formar una estructura cuasi-nativa de dicha proteína o análogo de la misma. En ciertas realizaciones, al menos una molécula de carga es un fármaco o un agente terapéutico. En ciertas realizaciones, más de una molécula de carga de la misma naturaleza está presente en el polipéptido transportador. En ciertas realizaciones, al menos una molécula de carga es una biomolécula. En una realización, la al menos una biomolécula es un ADN, ARN, ANP o polipéptido. En una realización, al menos una molécula de carga es un polipéptido. En ciertas realizaciones, cada polipéptido transportador es inestable y forma preferentemente un heteromultímero con al menos otro polipéptido transportador. En ciertas realizaciones, cada polipéptido transportador es estable y forma preferentemente un heteromultímero con al menos otro polipéptido transportador. En ciertas realizaciones, la interfaz de heteromultimerización comprende al menos un enlace disulfuro. En ciertas realizaciones, la interfaz de heteromultimerización no comprende un enlace disulfuro.

En ciertas realizaciones es un heteromultímero que comprende: al menos dos construcciones de polipéptidos, cada construcción de polipéptidos comprende al menos un polipéptido de carga unido a un polipéptido transportador, donde dichos primer y segundo polipéptidos transportadores se obtienen por segmentación de un polipéptido de albúmina

que tiene la secuencia de SEQ ID NO:1 en un sitio de segmentación, y donde la ubicación del sitio de segmentación es:

- (a) entre los residuos 339 y 340 de la SEQ ID NO: 1; o
- 5 (b) entre los residuos 300 y 301 de la SEQ ID NO:1; o
- (c) entre los residuos 364 y 365 de la SEQ ID NO: 1; o
- (d) entre los residuos 441 y 442 de la SEQ ID NO: 1; o
- (e) entre los residuos 171 y 172 de la SEQ ID NO:1; o
- (f) entre los residuos 281 y 282 de la SEQ ID NO: 1; o
- 10 (g) después del residuo 83 y antes del residuo 85 de la SEQ ID NO:1 y el residuo 84 es eliminado;

donde la numeración de residuos comienza con el primer residuo después de la secuencia de señal,

y donde dicho primer polipéptido transportador es diferente de dicho segundo polipéptido transportador, y dichos polipéptidos transportadores se autoensamblan para formar una estructura cuasi-nativa de la forma monomérica de dicho polipéptido de albúmina. En ciertas realizaciones, el heteromultímero es un heterodímero. En una realización, el heteromultímero es biespecífico. En una realización, el heteromultímero es multiespecífico. En ciertas realizaciones, el heteromultímero es bivalente. En una realización, el heteromultímero es multivalente. En una realización, el heteromultímero es multifuncional.

20 En algunos aspectos descritos en esta invención, los polipéptidos transportadores son derivados de una proteína anexina. En un aspecto, los polipéptidos transportadores se derivan de diferentes proteínas anexinas. En ciertos aspectos, los polipéptidos transportadores se derivan de la misma proteína anexina. En un aspecto, al menos un polipéptido transportador se deriva de Anexina A1 o lipocortina I. En ciertos aspectos del heteromultímero, todos los polipéptidos transportadores se derivan de Anexina A1 de SEQ ID NO: 14. En ciertos aspectos del heteromultímero, al menos un polipéptido transportador se deriva de una secuencia homóloga a la SEQ ID NO: 14. En un aspecto, al menos un polipéptido transportador se deriva de Anexina A2 o anexina II. En ciertos aspectos del heteromultímero, todos los polipéptidos transportadores se derivan de Anexina A2 o lipocortina II. En un aspecto, al menos un polipéptido transportador se deriva de proteína semejante a Anexina. En ciertas realizaciones del heteromultímero, todos los polipéptidos transportadores se derivan de proteína semejante a Anexina. En una realización, al menos un polipéptido transportador se deriva del grupo que comprende Anexina A1-Anexina A7. En una realización del heteromultímero descrito en esta invención, todos los polipéptidos transportadores se derivan del grupo que comprende Anexina A1-Anexina A7. SEQ ID No.-14. En ciertos aspectos, el primer polipéptido transportador basado en anexina tiene una secuencia que comprende SEQ ID NO: 15, y el segundo polipéptido transportador basado en anexina tiene una

35 secuencia que comprende SEQ ID NO: 16.

En algunos aspectos descritos en esta invención, los polipéptidos transportadores son derivados de transferrina. En un aspecto, al menos un polipéptido transportador se deriva de transferrina. En ciertos aspectos del heteromultímero, al menos un polipéptido transportador se deriva de transferrina de SEQ ID NO: 19 o análogo de la misma. En ciertos aspectos del heteromultímero, al menos un polipéptido transportador se deriva de una secuencia de polipéptidos homóloga a la transferrina. En ciertos aspectos del heteromultímero descrito en esta invención, al menos un polipéptido transportador se deriva de apo-transferrina. En ciertos aspectos, el primer polipéptido transportador basado en transferrina tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 15 y el segundo polipéptido transportador basado en transferrina tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 16.

45 En ciertas realizaciones del heteromultímero, al menos una molécula de carga es un polipéptido de carga. En una realización del heteromultímero descrito en esta invención, todas las moléculas de carga son polipéptidos de carga. En ciertas realizaciones, los polipéptidos de carga son proteínas terapéuticas o fragmentos o variantes de las mismas. En ciertas realizaciones, los polipéptidos de carga son antígenos o fragmentos o variantes de los mismos. En ciertas realizaciones, los polipéptidos de carga son receptores de antígeno o fragmentos o variantes de los mismos. En algunas realizaciones, el polipéptido de carga es un anticuerpo, un dominio de anticuerpos, un ligando o un receptor que se une a un polipéptido diana. En algunas realizaciones, al menos un polipéptido de carga se fusiona con el polipéptido transportador. En ciertas realizaciones, al menos un polipéptido de carga está unido al extremo N del polipéptido transportador. En algunas realizaciones, al menos un polipéptido de carga está unido al extremo C del polipéptido transportador. En algunas realizaciones, al menos un polipéptido de carga está unido químicamente al polipéptido transportador. En algunas realizaciones de los heteromultímeros descritos en esta invención, al menos un polipéptido de carga comprende GLP-1 o fragmento o variante del mismo. En algunas realizaciones, al menos un polipéptido de carga comprende glucagón o fragmento o variante del mismo. En una realización, al menos un polipéptido de carga comprende un dominio similar a EGF-A.

60

En esta invención se describen heteromultímeros, cada heteromultímero comprende: al menos una primera construcción de polipéptido que comprende al menos un polipéptido de carga y un primer polipéptido transportador; y al menos una segunda construcción de polipéptidos que comprende al menos un polipéptido de carga y un segundo polipéptido transportador. En ciertas realizaciones, el heteromultímero es un heterodímero. En una realización, el heteromultímero es multiespecífico. En una realización, el heteromultímero es biespecífico. En ciertas realizaciones del heteromultímero, los polipéptidos transportadores son derivados de la misma proteína. En ciertas realizaciones, los polipéptidos transportadores son derivados de albúmina. En ciertas realizaciones del heteromultímero descrito en esta invención, los polipéptidos transportadores se derivan de la albúmina de suero humano de la SEQ ID No 1. En ciertos aspectos, los polipéptidos transportadores son derivados de una anexina. En un aspecto, los polipéptidos transportadores son derivados de Anexina A2. En algunos aspectos, los polipéptidos transportadores son derivados de transferrina.

En ciertas realizaciones, son heteromultímeros, cada heteromultímero comprende: al menos una primera construcción de polipéptido que comprende al menos un polipéptido de carga y un primer polipéptido transportador que comprende un primer segmento de albúmina de suero humano; y al menos una segunda construcción de polipéptidos que comprende al menos un polipéptido de carga y un segundo polipéptido transportador que comprende un segundo segmento de albúmina de suero humano; donde dichos polipéptidos transportadores se autoensamblan para formar una estructura cuasi-nativa de albúmina o análogo de la misma. En ciertas realizaciones, el primer y el segundo segmento de albúmina de suero humano son de regiones no superpuestas de la proteína.

En ciertos aspectos descritos en esta invención son heteromultímeros, cada heteromultímero comprende: al menos una primera construcción de polipéptido que comprende al menos un polipéptido de carga y un primer polipéptido transportador que comprende una secuencia de SEQ ID NO:2; y al menos una segunda construcción de polipéptidos que comprende al menos un polipéptido de carga, y un segundo polipéptido transportador que comprende una secuencia de SEQ ID NO:3. En ciertos aspectos, son heteromultímeros, cada heteromultímero comprende: al menos una primera construcción de polipéptidos que comprende al menos un polipéptido de carga y un primer polipéptido transportador que comprende una secuencia de SEQ ID NO:8; y al menos una segunda construcción de polipéptidos que comprende al menos un polipéptido de carga y un segundo polipéptido transportador que comprende una secuencia de SEQ ID NO: 10. En ciertos aspectos del heteromultímero descrito en esta invención, al menos un polipéptido transportador se deriva de aloalbúminas. En ciertos aspectos, ambos polipéptidos transportadores se derivan de aloalbúminas. En ciertos aspectos, todos los polipéptidos transportadores son derivados de la misma aloalbúmina. En algunos aspectos, los polipéptidos transportadores son derivados de diferentes aloalbúminas. En algunos aspectos, cada polipéptido transportador es un derivado de aloalbúmina basado en una aloalbúmina seleccionada de la Tabla 2. En ciertos aspectos, la primera construcción de polipéptido comprende dos polipéptidos de carga. En algunos aspectos, la segunda construcción de polipéptidos comprende dos polipéptidos de carga. En algún aspecto, al menos una de las construcciones de polipéptidos está diseñada mediante la introducción de mutaciones. En ciertos aspectos, las mutaciones introducidas mejoran la funcionalidad de la construcción del polipéptido en comparación con la forma no mutada de la construcción. En ciertos aspectos, las mutaciones introducidas mejoran una o más de la estabilidad, la vida media y la formación de heteromultímeros del polipéptido transportador.

En esta invención se describe un heteromultímero que comprende: al menos una primera construcción de polipéptido que comprende (i) un primer polipéptido transportador; y (ii) al menos un polipéptido de carga y al menos una segunda construcción de polipéptido que comprende (iii) un segundo polipéptido transportador y (iv) al menos un polipéptido de carga; donde dichos polipéptidos transportadores se derivan de una proteína por segmentación de dicha proteína, cada polipéptido transportador comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 90 % de identidad con un segmento de dicha proteína, y donde dichos polipéptidos transportadores se autoensamblan para formar una estructura cuasi-nativa de dicha proteína.

En ciertos aspectos es un heteromultímero descrito en esta invención, donde los polipéptidos transportadores se derivan de una proteína por segmentación de dicha proteína, cada polipéptido transportador comprende una secuencia de aminoácidos con al menos un 95 % de identidad con un segmento de dicha proteína.

En ciertos aspectos es un heteromultímero descrito en esta invención, donde los polipéptidos transportadores se derivan de una proteína por segmentación de dicha proteína, cada polipéptido transportador comprende una secuencia de aminoácidos con al menos un 99 % de identidad con un segmento de dicha proteína.

En ciertos aspectos descritos en esta invención, el heteromultímero es un heterodímero. En algunos aspectos, al menos un polipéptido transportador no se deriva de un anticuerpo. En aspectos ejemplares, cada polipéptido transportador es un derivado de albúmina. En algunos aspectos, al menos uno de dichos polipéptidos transportadores

primero y segundo comprende al menos una mutación de un residuo de aminoácido a cistina de manera que dicha cisteína forma un enlace disulfuro con un residuo de cisteína en otro polipéptido transportador. En ciertos aspectos, dicho polipéptido transportador primero y segundo comprende al menos una mutación de un residuo de aminoácido a cistina de manera que dicha cisteína forma un enlace disulfuro con un residuo de cisteína en otro polipéptido transportador. En algunos aspectos se proporcionan heteromultímeros donde cada polipéptido transportador es un derivado de albúmina, comprendiendo el primer polipéptido transportador al menos una mutación seleccionada de entre A194C, L198C, W214C, A217C, L331C y A335C. En algunos aspectos, el segundo polipéptido transportador es un derivado de albúmina que comprende al menos una mutación seleccionada de entre L331C, A335C, V343C, L346C, A350C, V455C y N458C.

10

En algunos aspectos se proporcionan heteromultímeros descritos en esta invención, donde dicho primer polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 35 o análogo o variante de la misma, y donde dicho segundo polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende SEQ ID NO: 36 o análogo o variante de la misma. [En algunos aspectos, dicho primer polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 37 o análogo o variante de la misma, y donde dicho segundo polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende SEQ ID NO: 38 o análogo o variante de la misma. En ciertas realizaciones, dicho primer polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 39 o análogo o variante de la misma, y donde dicho segundo polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende SEQ ID NO: 40 o análogo o variante de la misma. En realizaciones ejemplares, dicho primer polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 41 o análogo o variante de la misma, y donde dicho segundo polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende SEQ ID NO: 42 o análogo o variante de la misma. En ciertas realizaciones, dicho primer polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 43 o análogo o variante de la misma, y donde dicho segundo polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende SEQ ID NO: 44 o análogo o variante de la misma. En ciertas realizaciones, dicho primer polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 45 o análogo o variante de la misma, y donde dicho segundo polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende SEQ ID NO: 46 o análogo o variante de la misma. En ciertas realizaciones, dicho primer polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 47 o análogo o variante de la misma, y donde dicho segundo polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende SEQ ID NO: 48 o análogo o variante de la misma. En ciertas realizaciones, dicho primer polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 49 o análogo o variante de la misma, y donde dicho segundo polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende SEQ ID NO: 50 o análogo o variante de la misma. En ciertas realizaciones, dicho primer polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 51, y donde dicho segundo polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende SEQ ID NO: 52.

En ciertas realizaciones del heteromultímero descrito en esta invención, al menos un polipéptido de carga se une a un antígeno diana, y donde dicho antígeno diana es al menos uno de la cadena a (CD25) de IL-2R, beta amiloide, anti-EpCAM, anti-CD3, CD16, CD20, CD22, CD23, CD3, CD4, CD52, CD80, CTLA-4, EGFR, EpCAM, proteína F de RSV, G250, glucoproteína IIB/IIIa R, HER2, HER2/neu R, HSP90, anticuerpo IgE, IL-12, IL-23, IL-1b, IL-5, IL-6, RANKL, TNF alfa, TNFR, VEGF-A, receptor de glucagón, receptor de GLP y receptor de LDL.

40

En esta invención se describen heteromultímeros, cada heteromultímero comprende: al menos una primera construcción de polipéptido que comprende al menos un polipéptido de carga y un primer polipéptido transportador; y al menos una segunda construcción de polipéptidos que comprende al menos un polipéptido de carga y un segundo polipéptido transportador. En ciertas realizaciones, al menos un polipéptido de carga se selecciona de entre las proteínas enumeradas en la Tabla 2 o fragmentos, variantes o derivados de las mismas. En ciertas realizaciones, al menos un polipéptido de carga se selecciona de entre ligando, receptor o anticuerpo para una o más proteínas enumeradas en la Tabla 2, o fragmento, variante o derivado de dicho ligando, receptor o anticuerpo. En ciertas realizaciones, al menos un polipéptido de carga se dirige a un antígeno de superficie celular del grupo que consiste en CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD40, CD56, CD64, CD70, CD74, CD79, CD105, Cd138, CD174, CD205, CD227, CD326, CD340, MUC16, GPNMB, PSMA, Cripto, ED-B, TMEFF2, EphB2, EphA2, FAP, integrina, Mesotelina, EGFR, TAG-72, GD2, CAIX, 5T4. En ciertas realizaciones, son heteromultímeros, cada heteromultímero comprende: al menos una primera construcción de polipéptido que comprende al menos un polipéptido de carga y un primer polipéptido transportador; y al menos una segunda construcción de polipéptido que comprende al menos un polipéptido de carga y un segundo polipéptido transportador, donde al menos un polipéptido de carga es un anticuerpo, o fragmento o variante del mismo. En ciertas realizaciones, todos los polipéptidos de carga son anticuerpos o fragmentos o variantes de los mismos. En algunas realizaciones, el polipéptido de carga es un anticuerpo que se une a una proteína enumerada en la Tabla 2. En algunas realizaciones, el fragmento de anticuerpo comprende la región de anticuerpo Fc o Fab o Fv. En alguna realización, el polipéptido de carga es una proteína que no es anticuerpo, como nanocuerpos, aficuerpo, maxicuerpo, adnectinas, anticuerpo de dominio, evicuerpo, proteínas repetidas de anquirina, anticualinas, camlides o una proteína ligando o un polipéptido que se une a una diana terapéuticamente relevante. En

60

algunas realizaciones, el anticuerpo o sus fragmentos se derivan de una inmunoglobulina seleccionada de entre el grupo que consiste en IgG, IgA, IgD, IgE e IgM. En algunas realizaciones, la IgG es del subtipo seleccionado de entre IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 e IgG4. En ciertas realizaciones, el anticuerpo es multiespecífico.

- 5 En esta invención se describen heteromultímeros, cada heteromultímero comprende: al menos una primera construcción de polipéptido que comprende al menos un polipéptido de carga y un primer polipéptido transportador; y al menos una segunda construcción de polipéptidos que comprende al menos un polipéptido de carga y un segundo polipéptido transportador, donde al menos un polipéptido de carga es un anticuerpo terapéutico. En algunas realizaciones de los heteromultímeros descritos en esta invención, al menos un polipéptido de carga es un anticuerpo
- 10 terapéutico o fragmento o variante del mismo, donde el anticuerpo se selecciona de entre abagovomab, adalimumab, alemtuzumab, aurograb, bapineuzumab, basiliximab, belimumab, bevacizumab, briakinumab, canakinumab, catumaxomab, certolizumab pegol, certuximab, daclizumab, denosumab, efalizumab, galiximab, gemtuzumab, ozagamicin, golimumab, ibritumomab tiuxetan, infliximab, ipilimumab, lumiliximab, mepolizumab, motavizumab, muromonab, mycograb, natalizumab, nimotuzumab, ocrelizumab, ofatumumab, omalizumab, palivizumab, panitumumab, pertuzumab, ranizumab, reslizumab, rituximab, teplizumab, toclizumab, tositumomab, trastuzumab,
- 15 Proxinium, Rencarex, ustekinumab y zalutumumab. En ciertas realizaciones, el anticuerpo terapéutico se une a un antígeno diana relacionado con la enfermedad, tal como antígeno de cáncer, antígeno de enfermedad inflamatoria o un antígeno de enfermedad metabólica. En ciertas realizaciones, el antígeno diana podría ser una proteína en una superficie celular y la célula podría pertenecer al grupo de células B, células T, células estromales, células endoteliales,
- 20 células vasculares, células mieloides, células hematopoyéticas o células de carcinoma.

- En esta invención se describen heteromultímeros, cada heteromultímero comprende: al menos una primera construcción de polipéptido que comprende al menos una molécula de carga, fragmento; y al menos una segunda construcción de polipéptido que comprende al menos una molécula de carga y un segundo polipéptido transportador,
- 25 donde al menos un polipéptido de carga es una enzima, un inhibidor de enzima, una hormona, un polipéptido terapéutico, un antígeno, una radiotoxina y quimiotoxina que incluye pero no se limita a neurotoxinas, interferones, toxinas de fusión de citocinas y toxinas de fusión de quimiocinas, citocinas, proteínas de fusión de anticuerpos o variantes o fragmentos de las mismas. En algunas realizaciones de los heteromultímeros descritos en esta invención, al menos un polipéptido de carga comprende GLP-1 o fragmento o variante del mismo. En algunas realizaciones, al
- 30 menos un polipéptido de carga comprende glucagón o fragmento o variante del mismo. En una realización, al menos un polipéptido de carga comprende un dominio similar a EGF-A. En ciertas realizaciones, la toxina es una inmunotoxina tal como Denileukin difitox y una inmunotoxina Anti-CD22 tal como CAT-3888 y CAT-8015. En ciertas realizaciones, la toxina es saporin. En algunas realizaciones, la toxina es mitotoxina. En algunas realizaciones, la toxina es toxina de difteria. En algunas realizaciones, la toxina es la toxina botulínica tipo A. En algunas realizaciones, la toxina es ricina
- 35 o un fragmento de la misma. En algunas realizaciones, la toxina es una toxina de la familia de toxinas RTX.

- En esta invención se describen heteromultímeros, cada heteromultímero comprende: al menos una primera construcción de polipéptido que comprende al menos un polipéptido de carga y un primer polipéptido transportador; y al menos una segunda construcción de polipéptidos que comprende al menos un polipéptido de carga y un segundo
- 40 polipéptido transportador, donde el polipéptido de carga se une al polipéptido transportador mediante conjugación química, ligadura nativa, ligadura química, un enlace disulfuro o fusión directa o fusión través de un enlazador. En ciertas realizaciones, los enlazadores para unir moléculas de carga tales como polipéptidos de carga a polipéptidos transportadores se seleccionan de los enlazadores descritos en US5482858, US5258498 y US5856456, US2009060721, US6492123, US4946778, US5869620, US7385032, US5073627, US5108910, US7977457,
- 45 US5856456, US7138497, US5837846, US5990275, EP1088888.

- Se proporcionan en esta invención células huésped que comprenden ácido nucleico que codifica un heteromultímero descrito en esta invención. En ciertas realizaciones, el ácido nucleico que codifica la primera construcción de polipéptido y el ácido nucleico que codifica la segunda construcción de polipéptido están presentes en un solo vector.
- 50 En ciertas realizaciones, el ácido nucleico que codifica la primera construcción de polipéptido y el ácido nucleico que codifica la segunda construcción de polipéptido están presentes en vectores separados.

- Se proporciona en esta invención un procedimiento para fabricar un heteromultímero, donde dicho procedimiento comprende: cultivar una célula huésped descrita en esta invención de manera que el ácido nucleico que codifica un
- 55 heteromultímero descrito en esta invención se exprese; y recuperar el heteromultímero del cultivo celular. En algunas realizaciones, la célula huésped es una célula procariota o una célula eucariota. En algunas realizaciones, la célula huésped es E. coli. En ciertas realizaciones, la célula huésped es una célula de levadura. En algunas realizaciones, la levadura es S. cerevisiae. En algunas realizaciones, la levadura es Pichia. En algunas realizaciones, la levadura es Pichia pastoris. En algunas realizaciones, la levadura es deficiente en glucosilación y/o deficiente en proteasa. En
- 60 algunas realizaciones, la célula huésped es una célula bacteriana. En algunas realizaciones, la célula huésped que

expresa un heteromultímero descrito en esta invención es una célula de mamífero. En ciertas realizaciones, la célula de mamífero es una célula CHO, una célula BHK, una célula NSO, una célula COS o una célula humana.

Se proporciona una composición farmacéutica que comprende un heteromultímero descrito en esta invención y un
 5 adyuvante farmacéuticamente aceptable. También se proporcionan procedimientos para tratar a un individuo que padece una enfermedad o trastorno, dicho procedimiento comprende administrar al individuo una cantidad efectiva de una formulación o composición farmacéutica descrita en esta invención. En ciertas realizaciones es un procedimiento para tratar el cáncer en un paciente, dicho procedimiento comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un heteromultímero descrito en esta invención. En algunas realizaciones es un
 10 procedimiento para tratar un trastorno inmune en un paciente, dicho procedimiento comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un heteromultímero descrito en esta invención. También se proporciona un procedimiento para tratar una enfermedad infecciosa en un paciente, dicho procedimiento comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un heteromultímero descrito en esta invención. En ciertas realizaciones es un procedimiento para tratar un trastorno cardiovascular en un paciente, dicho procedimiento
 15 comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un heteromultímero descrito en esta invención. En ciertas realizaciones es un procedimiento para tratar un trastorno respiratorio en un paciente, dicho procedimiento comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un heteromultímero descrito en esta invención. En ciertas realizaciones es un procedimiento para tratar un trastorno metabólico en un paciente, dicho procedimiento comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un
 20 heteromultímero descrito en esta invención. En ciertas realizaciones es un procedimiento para tratar una o más de hiperplasia suprarrenal congénita, enfermedad de Gaucher, síndrome de Hunter, enfermedad de Krabbe, leucodistrofia metacromática, enfermedad de Niemann-Pick, fenilcetonuria (PKU), porfiria, enfermedad de Tay-Sachs y enfermedad de Wilson en un paciente, dicho procedimiento comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un heteromultímero descrito en esta invención. Se proporcionan procedimientos para
 25 tratar el cáncer que comprenden proporcionar a un paciente que lo necesite una cantidad efectiva de la composición farmacéutica descrita en esta invención. En ciertas realizaciones es un procedimiento para inhibir el crecimiento de un tumor, que comprende poner en contacto el tumor con una cantidad efectiva del heteromultímero descrito en esta invención. En algunas realizaciones es un procedimiento para reducir un tumor, que comprende poner en contacto el tumor con una cantidad efectiva del heteromultímero descrito en esta invención.

30 Se proporciona un kit para detectar la presencia de un biomarcador de interés en un individuo, comprendiendo dicho kit (a) una cantidad de un heteromultímero descrito en esta invención, donde dicho heteromultímero comprende al menos un polipéptido de carga tal que dicho polipéptido de carga es capaz de unirse al biomarcador de interés; y (b) instrucciones de uso.

35 En esta invención se describen proteínas de heteromultímeros que comprenden al menos dos construcciones de polipéptidos, donde cada construcción de polipéptidos comprende al menos un polipéptido de carga, y un polipéptido basado en albúmina, de modo que dichas construcciones de polipéptidos se autoensamblan para formar el heteromultímero.

40 En ciertos aspectos, el polipéptido de carga se fusiona con el polipéptido transportador basado en albúmina o aloalbúmina. En algunos aspectos, el polipéptido de carga se fusiona con el polipéptido transportador basado en transferrina. En ciertos aspectos, el polipéptido de carga se fusiona con el polipéptido transportador basado en anexina. En algunos aspectos, la fusión está en el extremo N del polipéptido transportador. En ciertos aspectos, la fusión está
 45 en el extremo C del polipéptido transportador. En algunos aspectos, la fusión implica un enlazador de puente o una molécula espaciadora. En algunos aspectos, el polipéptido de carga está conjugado químicamente al polipéptido transportador. En ciertos aspectos, el polipéptido de carga se une al polipéptido transportador por medio de ligadura química o un enlace disulfuro.

50 En esta invención se proporcionan proteínas de heteromultímeros que comprenden al menos dos construcciones de polipéptidos, donde cada construcción de polipéptidos comprende al menos un polipéptido de carga, y un polipéptido transportador, de modo que dichos polipéptidos transportadores se autoensamblan para formar el heteromultímero. En algunos aspectos, cada polipéptido transportador es un polipéptido basado en aloalbúmina, de modo que dichos polipéptidos basados en aloalbúmina se autoensamblan para formar el heteromultímero. En algunos aspectos, cada
 55 polipéptido transportador es un polipéptido basado en transferrina. En algunos aspectos, cada polipéptido transportador es un polipéptido basado en anexina. En ciertos aspectos, cada polipéptido transportador monomérico es inestable y forma preferentemente un heteromultímero con al menos otro polipéptido transportador.

En algunas realizaciones, un heteromultímero descrito en esta invención es un heterodímero. En algunas realizaciones,
 60 el polipéptido de carga es un anticuerpo, enzima, hormona, polipéptido terapéutico, antígeno, quimiotoxina, radiotoxina,

citocina o una variante o fragmento de los mismos. En algunas realizaciones, el polipéptido de carga de una construcción de polipéptido funciona en sinergia con el polipéptido de carga de otra construcción de polipéptido.

En esta invención se describen proteínas de heteromultímeros que comprenden al menos dos construcciones de polipéptidos, donde cada construcción de polipéptidos comprende al menos un polipéptido de carga, y un polipéptido basado en anexina, de modo que dichos polipéptidos basados en anexina se autoensamblan para formar el heteromultímero con una estructura cuasi-nativa de anexina monomérica o análogo de la misma. En algunos aspectos, la anexina es anexina A1. En algunos aspectos, un heteromultímero descrito en esta invención es un heterodímero. En algunas realizaciones, el polipéptido de carga es un anticuerpo, enzima, hormona, polipéptido terapéutico, antígeno, quimiotoxina, radiotoxina, citocina, ligando a un receptor, receptor o una variante o fragmento de los mismos. En algunos aspectos, el polipéptido de carga de una construcción de polipéptido funciona en sinergia con el polipéptido de carga de otra construcción de polipéptido. En algunos aspectos, el polipéptido de carga puede ser un agonista o antagonista del polipéptido de carga de otra construcción de polipéptido.

En esta invención se proporcionan proteínas heterodímeras que comprenden al menos dos proteínas de fusión monoméricas, donde cada proteína de fusión monomérica comprende al menos un polipéptido de carga fusionado a un polipéptido transportador derivado de albúmina de la invención, de modo que dichos polipéptidos derivados de albúmina se autoensamblan para formar el heterodímero multifuncional. En ciertas realizaciones, son proteínas heterodiméricas que comprenden un primer monómero que comprende al menos un polipéptido de carga fusionado a un polipéptido derivado de albúmina; y un segundo monómero que comprende al menos un polipéptido de carga fusionado a un polipéptido derivado de albúmina. En ciertas realizaciones, el al menos un polipéptido de carga del primer monómero es diferente del al menos un polipéptido de carga del segundo monómero. En ciertas realizaciones, el al menos un polipéptido de carga del primer monómero es el mismo que el al menos un polipéptido de carga del segundo monómero.

En ciertos aspectos descritos en esta invención son proteínas de heteromultímeros que comprenden al menos dos proteínas de fusión monoméricas, donde cada proteína de fusión monomérica comprende al menos un polipéptido de carga fusionado a un polipéptido derivado de aloalbúmina, de modo que dichos polipéptidos derivados de aloalbúmina se autoensamblan para formar el heteromultímero multifuncional. En ciertos aspectos son proteínas de heteromultímeros que comprenden al menos dos proteínas de fusión monoméricas, donde cada proteína de fusión monomérica comprende al menos un polipéptido de carga fusionado a un polipéptido derivado de transferrina, de modo que dichos polipéptidos derivados de transferrina se autoensamblan para formar el heteromultímero. En ciertos aspectos son proteínas de heteromultímeros que comprenden al menos dos proteínas de fusión monoméricas, donde cada proteína de fusión monomérica comprende al menos un polipéptido de carga fusionado a un polipéptido derivado de anexina, de modo que dichos polipéptidos derivados de anexina se autoensamblan para formar el heteromultímero. En ciertos aspectos, la anexina es Anexina A2.

En ciertos aspectos, son proteínas de heteromultímeros que comprenden una primera construcción de polipéptido que comprende al menos un polipéptido de carga fusionado a un polipéptido derivado de aloalbúmina; y una segunda construcción de polipéptido que comprende al menos un polipéptido de carga fusionado a un polipéptido derivado de aloalbúmina. En ciertos aspectos, el al menos un polipéptido de carga de la primera construcción de polipéptidos es diferente del al menos un polipéptido de carga de la segunda construcción de polipéptidos. En ciertos aspectos, el al menos un polipéptido de carga de la primera construcción de polipéptidos es el mismo que el al menos un polipéptido de carga de la segunda construcción de polipéptidos.

Se proporciona en esta invención un heteromultímero que comprende: al menos dos monómeros, cada uno de los cuales comprende un polipéptido transportador y opcionalmente al menos una molécula de carga unida a dicho polipéptido transportador, donde cada polipéptido transportador se obtiene por segmentación de una proteína completa de tal manera que dichos polipéptidos transportadores se autoensamblan para formar una proteína completa cuasi-nativa. En ciertas realizaciones, el heteromultímero es multiespecífico. En ciertas realizaciones, los polipéptidos transportadores no se derivan de un anticuerpo. En algunas realizaciones, cada monómero forma preferentemente el heteromultímero en comparación con un monómero o un homomultímero. En una realización del heteromultímero, al menos una molécula de carga es un agente terapéutico o una biomolécula. En algunas realizaciones, al menos una molécula de carga es una biomolécula que se selecciona de entre un polipéptido, ADN, APN o ARN. En algunas realizaciones, cada polipéptido transportador es un derivado de albúmina o aloalbúmina. En una realización, cada polipéptido transportador es un derivado de anexina. En ciertas realizaciones, cada polipéptido transportador es un derivado de transferrina.

En ciertos aspectos son formulaciones farmacéuticas que comprenden una proteína heteromultimérica basada en albúmina y/o basada en aloalbúmina descrita en esta invención y un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

En ciertos aspectos son formulaciones farmacéuticas que comprenden una proteína heteromultimérica basada en transferrina descrita en esta invención y un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. En ciertos aspectos son formulaciones farmacéuticas que comprenden una proteína heteromultimérica basada en anexina descrita en esta invención y un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. En ciertos aspectos son formulaciones farmacéuticas que comprenden una proteína heteromultimérica basada en Anexina-A2 descrita en esta invención y un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. En ciertos aspectos, una formulación descrita en esta invención se proporciona como parte de un kit o contenedor. En ciertos aspectos, el kit o contenedor está empaquetado con instrucciones relativas a la vida útil prolongada de la proteína terapéutica. En algunos aspectos, un heteromultímero descrito en esta invención se usa en un procedimiento para tratar (por ejemplo, para mejorar), impedir o diagnosticar una enfermedad o síntoma de enfermedad en un individuo, que comprende la etapa de administrar dicha formulación al individuo.

En esta invención se proporciona un procedimiento para obtener andamios de proteínas de fusión con un número conocido de sitios de conjugación basados en cualquier proteína de transporte de interés.

También se proporcionan organismos transgénicos modificados para contener moléculas de ácido nucleico descritas en esta invención para codificar y expresar proteínas de fusión monoméricas descritas en esta invención.

Otros aspectos y características de la presente invención serán evidentes para los expertos habituales en la técnica tras la revisión de la siguiente descripción de aspectos específicos de la invención junto con las figuras adjuntas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

En los dibujos que ilustran realizaciones de la invención,

La Figura 1 representa la estructura de la molécula de Albúmina Sérica Humana (HSA). Las secciones alfa helicoidales de la estructura secundaria se muestran esquemáticamente junto con los enlaces representados como bastones.

La Figura 2 es un gráfico del área de superficie accesible al solvente enterrada en la interfaz de dos polipéptidos basados en albúmina. ABH1 está representado por la estructura a la izquierda, mientras que ABH2 está representado por la estructura a la derecha.

La Figura 3 representa dos polipéptidos basados en albúmina expresados por separado. Los dos polipéptidos se muestran en gris claro y gris oscuro respectivamente. Cada polipéptido comprende dos sitios de fusión para proteínas de carga funcionales y estos sitios se representan como esferas. Los residuos de disulfuro en la estructura se muestran como bastones.

La Figura 4 es una representación esquemática de terapias biespecíficas y otras terapias multifuncionales basadas en el heteromultímero multispecífico descrito en esta invención. Los polipéptidos basados en albúmina o basados en aloalbúmina se denotan como A1 y A2. Los heteromultímeros multifuncionales se obtienen conjugando motivos de unión a antígeno, citocinas y otras formas de moléculas de señalización, quimiotoxinas, radiotoxinas u otros inmunconjugados funcionalmente relevantes a sitios terminales N y/o C en A1 y A2 y esto se representa con el símbolo □.

La Figura 5 es un esquema de un anticuerpo biespecífico que se deriva de un dominio Fc heterodimérico. Los polipéptidos basados en albúmina o aloalbúmina están conectados al terminal C del Fc para conducir selectivamente la formación de heterodímeros.

La Figura 6B muestra perfiles de electroforesis en gel nativos de HSA de longitud completa y andamios de heterodímeros heteromultímero-1 (ABH1) basado en Albúmina y heteromultímero-2 (ABH2) basado en Albúmina formados por coexpresión de polipéptidos transportadores basados en HSA. **La Figura 6A** muestra un perfil de gel SDS-PAGE no reductor de ABH2, ABH1 y WT HSA. Los dos polipéptidos de fragmentos de ABH1 y ABH2 se coexpresaron en diferentes proporciones de ADN, como lo indican las proporciones en la parte superior de la figura. Como controles y para observar la homodimerización, los fragmentos A y B se expresaron independientemente. **La Figura 6C** es un gel nativo del eluyente inicial, de flujo, de lavado y final después de la purificación con Blue Sepharose de WT-HSA (v225) y ABH2 (v221).

La Figura 7 muestra la estabilidad de HSA natural y los andamios heterodímeros ABH1 y ABH2 estudiados usando Calorimetría de Barrido Diferencial.

Las Figuras 8A-8B muestran isotermas de unión en equilibrio 3000 nM FcRN 3x series de dilución sobre 3000 RU. La Figura 8B muestra Albúmina y la Figura 8A muestra el andamio de heteromultímero ABH1

- 5 **La Figura 9** muestra esquema para heteromultímeros basados en Albúmina multivalentes que comprenden fusiones bioactivas anti-Her2/neu y anti-CD 16 scFv

Las Figuras 10A-10B contienen un análisis SDS PAGE no reductor de las fusiones de heteromultímero ABH2 descritas en la Tabla 8. El gel indica que todas las construcciones forman el complejo correcto con MW esperado.

10

La Figura 11 muestra la estructura de la molécula de Anexina basada en la estructura PDB 1MCX. Los dos monómeros que se derivarán dividiendo la molécula de Anexina están codificados por color como conjuntos gris claro y gris oscuro. Los sitios de fusión para la proteína de carga se representan como esferas.

- 15 **La Figura 12** muestra un gráfico del área de superficie accesible al disolvente enterrada en la interfaz del polipéptido transportador basado en anexina-1 y el polipéptido transportador basado en anexina-2.

La Figura 13 muestra la estructura de la molécula de transferrina basada en la estructura PDB 1H76. Los dos monómeros que se derivaron dividiendo la molécula de transferrina están codificados por color como conjuntos gris claro y gris oscuro. Los sitios de fusión para la proteína de carga se representan como esferas.

20

La Figura 14 muestra un gráfico del área de superficie accesible al solvente enterrada en la interfaz de dos polipéptidos transportadores basados en transferrina descritos en esta invención. Una transferrina dividida cerca de la posición del residuo 330 según diseñado en esta invención, forma un heterodímero con aproximadamente 1800 Å² de área de superficie enterrada.

25

Las Figuras 15A-15P representan heteromultímeros que comprenden polipéptidos transportadores basados en albúmina que se autoasocian para formar albúmina monomérica cuasi-nativa. Cada par de polipéptidos transportadores se obtiene por segmentación de albúmina en un sitio único, diferente del otro

30

Las Figuras 16A y 16B proporcionan las estructuras de ABH2 y ABH1 respectivamente. Ambos diagramas incluyen a) la ubicación del sitio de corte en WT-HSA para crear la proteína basada en albúmina, b) la ubicación de los nuevos sitios de corte C' y N' y c) una representación circular simplificada de ABH1 y ABH2, utilizada en numerosos ejemplos posteriores.

35

La Figura 17 muestra varias configuraciones mono, bi, tri y tetravalente de scFv anti-Her2 que se pueden unir a ABH2. Los controles incluyeron el andamio ABH2, el scFV anti-HER2, el Fc de un solo brazo y el Fc bivalente. Además, la capacidad de las diversas construcciones ABH2 para unirse a células SKOV que expresan Her2 se indica con los valores K_D dentro de las tablas.

40

La Figura 18A muestra las curvas de unión de cuatro construcciones cargadas anti-Her3 x Her2 (v1087, v1088, v1089 y v1090) a células MALME-3M. La afinidad por las células se evaluó usando FACS con anticuerpos anti-HSA marcados con FITC. El gráfico inferior izquierdo muestra la concentración en una escala lineal, mientras que el inferior derecho está en una escala logarítmica. **La Figura 18B** muestra las curvas de unión de las cuatro construcciones mencionadas anteriormente a las células SKOV-3. El gráfico inferior izquierdo muestra una escala lineal, mientras que la inferior derecha muestra una escala logarítmica.

45

La Figura 19A -D demuestra la estabilidad de cuatro ABH2 cargados con anti-Her2 (v519, v520, v518 y v517) en suero humano. La afinidad de unión a las células SKOV-3 se evaluó usando FACS con anticuerpo anti-HSA marcado con FITC.

50

Las Figuras 20A y 20B muestran la afinidad de unión de anti-Her2 x Her3 ABH2 biespecífico (v1378) a FcRn en comparación con el control v1087 (MM-111). Los gráficos representan las curvas de resonancia de plasmones superficiales (SPR) de los dos compuestos representados como Resp. Dif. en el Tiempo.

55

La Figura 21 representa los perfiles de gel nativo tanto del andamio ABH2 (v221) como de un ABH2 anti-Her2 monovalente (v517) incubado durante cinco días a tres temperaturas (37°C, temperatura ambiente y 4°C).

La Figura 22A representa el perfil de gel nativo de las fracciones total, de flujo, lavado y eluyente de WT HSA después de purificación con Blue Sepharose. **La Figura 22B** es un cromatograma de WT-HSA después de la purificación con

60

Blue Sepharose aplicada a una columna de filtración en gel. Diferentes picos representan diferentes productos proteicos. La **Figura 22C** es un cromatograma de WT-HSA después de purificación con AlbuPure, fraccionado por aplicación a columna de filtración en gel.

5 **La Figura 23A** es un cromatograma del análisis de cromatografía líquida de WT-HSA (v225) después de purificación con AlbuPure y filtración en gel. Las **Figuras 23B-23E** son cromatogramas de los andamios AlbuCORE 1 (v225), 3 (v1636), 6 (v1638) y 9 (v1640) respectivamente después de purificación con AlbuPure, separados en fracciones y analizados por LC de filtración en gel.

10 **La Figura 24A** representa el análisis LC de filtración en gel de un andamio de albúmina (v221) después de la purificación con AlbuPure. El producto expreso se amplió mediante coexpresión transitoria en células de CHO. La **Figura 24B** muestra perfiles de gel SDS-PAGE no reductores (indicados por -DTT) y reductores (indicados por +DTT) de la misma variante.

15 **La Figura 25A** representa los perfiles de gel nativos del eluyente total, de flujo, de lavado y final de las proteínas WT-HSA y AlbuCORE-A después de purificación con AlbuPure. La **Figura 25B** representa un análisis LC/MS de las mismas dos proteínas.

La Figura 26A es un diagrama que indica el grado de separación espacial entre los cuatro términos en ABH2. La **Figura 26B** es un diagrama comparativo que demuestra el grado de separación espacial entre las regiones variables de una molécula de anticuerpo normal. La **Figura 26C** muestra cuatro andamios de AlbuCore que tienen distancias entre extremos diferentes y variables para la unión de antígeno alternativa.

La Figura 27 muestra las curvas de fusión DSC de los andamios AlbuCORE 1, 3, 6 y 9. En cada gráfico, la curva y el punto de fusión de cada andamio basado en albúmina se compara con la curva y el punto de fusión de 75°C del WT HSA.

La Figura 28A es la representación esquemática de heteromultímeros bivalentes biespecíficos anti-CD3xCD19 en un WT-HSA o un andamio de albúmina en splicing. La **Figura 28B** representa las representaciones esquemáticas de construcciones de heteromultímeros anti-CD3 monovalentes adicionales, así como construcciones de heteromultímeros anti-CD 19 monovalentes y multivalentes. La **Figura 28C** representa un gel PAGE no reductor de las construcciones descritas anteriormente después de que cada una se expresó en un sistema CHO humano en crecimiento en suspensión.

35 **La Figura 29** proporciona las mediciones de K_a y Hill Slope de cuatro heteromultímeros bivalentes biespecíficos anti-CD3xCD19 en un andamio WT-HSA o de albúmina en splicing. Las pruebas de unión evaluaron la capacidad de la variante para unirse a células Jurkat o Raji según se analizó usando FACS.

La Figura 30A muestra gráficos de población de células FACS del control similar a BiTE (v891), un heteromultímero basado en albúmina anti-CD3xCD19 (v1093) y un heteromultímero basado en Het-Fc anti-CD3xCD19 (v873). Se evaluó la unión a células Raji y Jurkat. La **Figura 30B** muestra gráficos FACS adicionales de las tres construcciones mencionadas anteriormente y en comparación con un control de albúmina (v221).

La Figura 31A muestra una SDS-PAGE del producto de expresión v218 antes, durante y después de purificación usando afinidad de Co2 +. La **Figura 31B** es un cromatograma de la misma construcción después de purificación adicional mediante filtración en gel.

Figura 32 Gráfico de contactos de residuos realizado por un subconjunto de residuos en la albúmina de suero humano derivada de su estructura 3-dimensional.

50 **Figura 33** Gráfico de la naturaleza de los contactos e interacciones logradas por residuos en focos seleccionados en albúmina de suero humano.

Figura 34 Una representación gráfica de residuos en focos o clusters (parches) de residuos en focos en albúmina de suero humano.

La Figura 35 muestra un gel que demuestra la expresión de varios heteromultímeros basados en albúmina que comprenden residuos de cisteína introducidos.

60 **La Figura 36A** proporciona un gel no reductor que muestra la expresión de variantes de heteromultímeros 1635, 1638,

1639 y 1641; la **Figura 36B** proporciona un gel no reductor que muestra la expresión de variantes de heteromultímeros 1634, 1636, 1637, 1640 y 221. Las células de CHO se transfectaron con las siguientes relaciones de ADN: Relación A = plásmido A: plásmido B 100 %:0 %; Relación D = plásmido A: plásmido B 66 %:34 %; Relación B = plásmido A:plásmido B 50 %:50 %; Relación H = plásmido A:plásmido B 34 %:66 %; y Relación F = plásmido A:plásmido B 0 %/100 %.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

En el ámbito de las proteínas terapéuticas, las moléculas biespecíficas exhiben especificidades diana duales o pueden realizar simultáneamente múltiples papeles funcionales al proporcionar la organización espacio-temporal necesaria para la acción del fármaco. En un aspecto, moléculas biespecíficas son particularmente interesantes cuando el modo de acción terapéutica implica redirigir células o moléculas efectoras hacia una diana como una célula tumoral [Muller D. y Kontermann RE (2010) *Biodrugs* 24, 89-98]. El desarrollo de proteínas terapéuticas biespecíficas con farmacocinética y actividad funcional favorables en condiciones estables y homogéneas ha sido un desafío. Se han hecho intentos para ensamblar conjuntos biespecíficos de múltiples dominios de unión a antígeno usando una serie de estrategias. Estas técnicas han implicado el uso de la molécula de IgG de anticuerpo heterodimérico, usando proteínas de cremallera de leucina como el par Fos/Jun u otros andamios ensamblados de las organizaciones alternativas de las cadenas ligeras y pesadas de los dominios variables en un anticuerpo. Kipriyanov y Le Gall han revisado el diseño de una variedad de construcciones biespecíficas [Kipriyanov SM y Le Gall F. (2004) *Curr Opin Drug Discov Dev* 7, 233-242]. El uso de una molécula de IgG de anticuerpo heterodimérico donde se introducen mutaciones en el dominio CH3 del anticuerpo para lograr el heterodímero y, por lo tanto, introduce los dos sitios únicos de unión a antígeno en una molécula, es muy atractivo debido a la estructura similar a la inmunoglobulina natural de esta construcción. Además, la porción Fc del anticuerpo está involucrada en interacciones con el receptor Fc neonatal (FcRn) que media una vía de natural endocítica y esto se atribuye a una vida media en suero mejorada de la molécula de anticuerpo [Roopenian D. y Akilesh S. (2007) *Nature Rev Immunol* 7, 715-725]. Por otro lado, moléculas biespecíficas basadas en anticuerpos han sido problemáticas en ensayos clínicos debido a las fuertes respuestas de citoquinas como resultado de la actividad efectora concurrente inducida a través de la porción Fc del anticuerpo biespecífico [Weiner LM; Alpaugh RK y col. (1996) *Cancer Immunol Immunother* 42, 141-150]. Esto resalta las necesidades de andamios novedosos que pueden ayudar en el diseño de moléculas biespecíficas e inmunoconjugadas.

La proteína de albúmina de suero humano (HSA) es el componente más abundante de la sangre, representando cerca del 60 % de la proteína total en el suero sanguíneo a una concentración de aproximadamente 40 mg/ml. La albúmina es también una de las proteínas más longevas del sistema circulatorio con una vida media de aproximadamente 19 días. Curiosamente, se sabe que la misma vía de recuperación endocítica dependiente de moléculas de FcRn que impide la degradación de anticuerpos también interactúa con la molécula de HSA [Chaudhary C.; Mehnaz S. y col. (2003) *J Exp Med* 197, 315-322].

HSA (que se muestra en la Figura 1) es una proteína de polipéptido único de 585 residuos no glicosilada y la estructura tridimensional de la proteína se observó por primera vez mediante cristalografía de rayos X por Carter y colegas [revisado en Carter, D.C. y Ho, J.X. (1994) *Adv Prot Chem* 45, 153-203]. La proteína HSA consiste en tres dominios homólogos: DI, DII, DIII, atribuidos a la duplicación de genes, una característica común a la albúmina sérica en otras especies también [Gray J.E. & Doolittle R.F. (1992) *Protein Sci* 1, 289-302]. Cada uno de los tres dominios se ha expresado y caracterizado por separado y se ha demostrado que es independientemente estable [Dockal M., Carter D.C. y Ruker F. (1999) *J Biol Chem* 274, 29303-29310]. Cada dominio está formado por 10 segmentos helicoidales y, basado en la organización inter-helicoidal, cada dominio puede clasificarse en 2 subdominios compuestos por hélice 1-6 y 7-10, respectivamente. HSA tiene 17 enlaces disulfuro en total y todos estos pares de cisteína que forman los enlaces están dentro de los dominios individuales. En general, HSA es muy estable debido a la gran cantidad de enlaces disulfuro, así como al pliegue predominantemente helicoidal. Las identidades de secuencia de moléculas de albúmina en varias especies son bastante grandes, más del 70 % entre el ADNc de albúmina derivado de humanos, caballos, bovinos, ratas, etc. [Carter, D.C. & Ho, J.X. (1994) *Adv Prot Chem* 45, 153-203].

Pares de proteínas divididas se han utilizado como sensores para comprender las interacciones proteína-proteína en el área de la proteómica funcional. La estrategia implica identificar segmentos adecuados de una proteína que puede reconstituirse para formar una proteína nativa activa. Generar nuevas proteínas divididas es técnicamente difícil. Para que una proteína se divida de una manera funcionalmente útil, el sitio de segmentación debe producir dos segmentos que se reconstituyan eficientemente en la proteína cuasi-nativa cuando se asocian entre sí. Además, los segmentos proteicos componentes deben ser lo suficientemente solubles como para permanecer en solución y asociarse selectivamente con los segmentos asociados de manera que los rendimientos de fabricación y purificación sean económicos. Derivar segmentos de proteína divididos que se recombinarían para formar la estructura cuasi-nativa que

se asemeje a la proteína nativa monomérica es bastante desafiante [Tafelmeyer P., Johnsson N. y Johnsson K. Chem & Biol 11, 681-689]. Dichas proteínas divididas no se han utilizado en el diseño de terapias proteicas, ni como vehículos de entrega de carga en el pasado.

- 5 La presente invención proporciona heteromultímeros que comprenden un primer monómero que comprende (i) un primer polipéptido transportador; y un segundo monómero que comprende (ii) un segundo polipéptido transportador; donde cada uno de dichos primer y segundo polipéptido transportador comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 90 % de identidad con un segmento de un polipéptido de albúmina; y donde dichos primer y segundo polipéptidos transportadores se obtienen por segmentación de dicho polipéptido de albúmina en un sitio de segmentación, donde dichos polipéptidos transportadores se autoensamblan para formar una estructura cuasi-nativa de la forma monomérica de dicho polipéptido de albúmina. En una realización, el sitio de segmentación se selecciona de modo que resida en un lazo del polipéptido de albúmina que tiene un área de superficie accesible al solvente (SASA) alta y un contacto limitado con el resto de la estructura de albúmina, b) da como resultado una interfaz complementaria entre los polipéptidos transportadores, donde la interfaz es apolar, extensa e interdigitada, y donde la ubicación del sitio de segmentación está: (a) entre los residuos 339 y 340 de SEQ ID NO: 1; o (b) entre los residuos 300 y 301 de la SEQ ID NO: 1; o (c) entre los residuos 364 y 365 de SEQ ID NO: 1; o (d) entre los residuos 441 y 442 de SEQ ID NO: 1; o (e) entre los residuos 171 y 172 de la SEQ ID NO: 1; o (f) entre los residuos 281 y 282 de SEQ ID NO: 1; o (g) después del residuo 83 y antes del residuo 85 de SEQ ID NO: 1 y el residuo 84 es eliminado; donde la numeración de residuos comienza con el primer residuo después de la secuencia de señal. Tales heteromultímeros exhiben una estabilidad comparable a la de la albúmina natural. El primer y el segundo monómeros pueden comprender además al menos un polipéptido de carga. Los heteromultímeros que comprenden dicho al menos un polipéptido de carga pueden usarse como agentes terapéuticos para el tratamiento de enfermedades.

Definiciones

- 25 Debe entenderse que esta invención no está limitada a los protocolos, líneas celulares, construcciones y reactivos particulares descritos en esta invención y como tales pueden variar. También debe comprenderse que la terminología utilizada en esta invención tiene el fin de describir solamente realizaciones particulares y no pretende limitar el alcance de la presente invención, que estará limitado solamente por las reivindicaciones adjuntas.
- 30 Como se usa en esta invención y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen referencias plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a una "HSA", "HA", "albúmina", "albúmina de suero humano" y varias formas en mayúscula, con guión y sin guión es una referencia a una o más de tales proteínas e incluye variantes, derivados, fragmentos, equivalentes de los mismos
- 35 conocidos por los expertos en la técnica, y así sucesivamente.

- A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en esta invención tienen el mismo significado que comúnmente es entendido por un experto habitual en la técnica a la que pertenece la presente invención. Aunque cualquier procedimiento, dispositivo y material similar o equivalente a los descritos en esta invención también se puede usar en la práctica o prueba de la presente invención, los procedimientos, dispositivos y materiales preferidos se describen ahora.

- Un "heteromultímero" o "polipéptido heteromultimérico" es una molécula que comprende al menos un primer monómero que comprende un primer polipéptido transportador y un segundo monómero que comprende un segundo polipéptido transportador, donde el segundo polipéptido difiere en la secuencia de aminoácidos del primer polipéptido en al menos un residuo de aminoácido. El heteromultímero puede comprender un "heterodímero" formado por el primer y segundo polipéptido transportador. En ciertas realizaciones, el heteromultímero puede formar estructuras terciarias de orden superior tales como, pero sin limitación, trímeros y tetrámeros. En algunas realizaciones, están presentes polipéptidos transportadores además del primer y segundo polipéptidos transportadores. En ciertas realizaciones, el ensamblaje de polipéptidos transportadores para formar el heteromultímero es conducido por enterramiento del área superficial. En algunas realizaciones, los polipéptidos transportadores interactúan entre sí por medio de interacciones electrostáticas y/o interacciones de puente salino que impulsan la formación de heteromultímeros al favorecer la formación de heteromultímeros y/o desfavorecer la formación de homomultímeros. En algunas realizaciones, los polipéptidos transportadores interactúan entre sí por medio de interacciones hidrófobas que impulsan la formación de heteromultímeros al favorecer la formación de heteromultímeros y/o desfavorecer la formación de homomultímeros. En ciertas realizaciones, los polipéptidos transportadores interactúan entre sí mediante la formación de enlaces covalentes. En ciertas realizaciones, los enlaces covalentes se forman entre cisteínas presentes o introducidas naturalmente que impulsan la formación de heteromultímeros. En ciertas realizaciones de los heteromultímeros descritos en esta invención, no se forman enlaces covalentes entre los monómeros. En algunas realizaciones, los polipéptidos transportadores interactúan entre sí por medio de interacciones de empaquetamiento/

complementariedad de tamaño/ perillas en orificios/ tipo protruberancia-cavidad que impulsan la formación de heteromultímeros favoreciendo la formación de heteromultímeros y/o desfavoreciendo la formación de homomultímeros. En algunas realizaciones, los polipéptidos transportadores interactúan entre sí por medio de interacciones catión-pi que impulsan la formación de heteromultímeros al favorecer la formación de heteromultímeros y/o desfavorecer la formación de homomultímeros. En ciertas realizaciones, los polipéptidos transportadores individuales no pueden existir como monómeros aislados en solución. En ciertas realizaciones, el heteromultímero es el estado preferido de los polipéptidos transportadores individuales en comparación con el monómero.

El término "biespecífico" pretende incluir cualquier agente, por ejemplo, heteromultímero, monómero, proteína, péptido o complejo de proteína o péptido, que tiene dos especificidades de unión diferentes. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la molécula puede unirse o interactuar con (a) una molécula diana de la superficie celular y (b) un receptor de Fc en la superficie de una célula efectora. En ciertas realizaciones de un heteromultímero descrito en esta invención, al menos un monómero se forma biespecífico uniéndose al mismo polipéptido transportador, dos moléculas de carga con diferentes especificidades de unión. En ciertas realizaciones de un heteromultímero descrito en esta invención, el heteromultímero en sí mismo se forma biespecíficamente uniéndose a los polipéptidos transportadores, al menos dos moléculas de carga con especificidades diferentes. El término "molécula multiespecífica" o "molécula heteroespecífica" pretende incluir cualquier agente, por ejemplo, una proteína, péptido o complejo de proteína o péptido, que tiene más de dos especificidades de unión diferentes. Por ejemplo, la molécula puede unirse a, o interactuar con, (a) una molécula diana de la superficie celular tal como, pero sin limitarse a, antígenos de la superficie celular, (b) un receptor de Fc en la superficie de una célula efectora, y (c) al menos otro componente. Por consiguiente, las realizaciones de los heteromultímeros descritos en esta invención incluyen, pero no se limitan a, moléculas biespecíficas, trispecíficas, tetraspecíficas y otras moléculas multiespecíficas. En ciertas realizaciones, estas moléculas se dirigen a antígenos de la superficie celular, como CD30, y a otras dianas, como los receptores de Fc en las células efectoras.

A menos que se indique lo contrario, la expresión "multivalente" se usa a lo largo de esta memoria descriptiva para denotar un heteromultímero que comprende al menos dos sitios de unión para moléculas diana. El heteromultímero multivalente está diseñado para tener múltiples sitios de unión para las dianas deseadas. En ciertas realizaciones, los sitios de unión están en al menos una molécula de carga unida a un polipéptido transportador. En ciertas realizaciones, al menos un sitio de unión está en un polipéptido transportador. La expresión "bivalente" se usa a lo largo de esta memoria descriptiva para denotar un heteromultímero que comprende dos sitios de unión diana. En ciertas realizaciones de un heteromultímero bivalente, ambos sitios de unión están en el mismo monómero. La expresión "trivalente" se usa a lo largo de esta memoria descriptiva para denotar un heteromultímero que comprende tres sitios de unión diana. La expresión "tetraivalente" se usa a lo largo de esta memoria descriptiva para denotar un heteromultímero que comprende cuatro sitios de unión diana.

Las "proteínas de fusión" y los polipéptidos se crean uniéndose dos o más genes que originalmente codifican polipéptidos separados. La traducción de este gen de fusión da como resultado un único polipéptido con propiedades funcionales derivadas de cada uno de los polipéptidos originales. En realizaciones de los heteromultímeros descritos en esta invención, al menos un monómero puede comprender una proteína de fusión formada por la fusión de al menos un polipéptido de carga al extremo N- o C- de un polipéptido transportador.

El término "sustancialmente purificado" se refiere a un heteromultímero descrito en esta invención, o una variante del mismo que puede estar sustancialmente o esencialmente libre de componentes que normalmente acompañan o interactúan con la proteína como se encuentra en su entorno natural, es decir, una célula nativa o célula huésped en el caso de heteromultímero producido de forma recombinante que, en ciertas realizaciones, está sustancialmente libre de material celular que incluye preparaciones de proteína que tienen menos de aproximadamente 30 %, menos de aproximadamente 25 %, menos de aproximadamente 20 %, menos de aproximadamente 15 %, menos de aproximadamente 10 %, menos de aproximadamente 5 %, menos de aproximadamente 4 %, menos de aproximadamente 3 %, menos de aproximadamente 2 % o menos de aproximadamente 1 % (en peso seco) de proteína contaminante. Cuando el heteromultímero o variante del mismo es producido de forma recombinante por las células huésped, la proteína en ciertas realizaciones está presente en aproximadamente 30 %, aproximadamente 25 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 15 %, aproximadamente 10 %, aproximadamente 5 %, aproximadamente 4 %, aproximadamente 3 %, aproximadamente 2 %, o aproximadamente 1 % o menos del peso seco de las células. Cuando el heteromultímero o variante del mismo es producido de manera recombinante por las células huésped, la proteína, en ciertas realizaciones, está presente en el medio de cultivo a aproximadamente 5 g/L, aproximadamente 4 g/L, aproximadamente 3 g/L, aproximadamente 2 g/L, aproximadamente 1 g/L, aproximadamente 750 mg/L, aproximadamente 500 mg/L, aproximadamente 250 mg/L, aproximadamente 100 mg/L, aproximadamente 50 mg/L, aproximadamente 10 mg/L, o aproximadamente 1 mg/L o menos del peso seco de las células. En ciertas realizaciones, el heteromultímero "sustancialmente purificado" producido por los procedimientos descritos en esta

invención, tiene un nivel de pureza de al menos aproximadamente 30 %, al menos aproximadamente 35 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 45 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 55 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 65 %, al menos aproximadamente 70 %, específicamente, un nivel de pureza de al menos aproximadamente 75 %, 80 %, 85 %, y más

5 específicamente, un nivel de pureza de al menos aproximadamente 90 %, un nivel de pureza de al menos aproximadamente 95 %, un nivel de pureza de al menos aproximadamente 99 % o mayor según determinado por procedimientos apropiados tales como análisis SDS/PAGE, RP-HPLC, SEC y electroforesis capilar.

Una "célula huésped recombinante" o "célula huésped" se refiere a una célula que incluye un polinucleótido exógeno, independientemente del procedimiento utilizado para la inserción, por ejemplo, captación directa, transducción, apareamiento f u otros procedimientos conocidos en la técnica para crear células huésped recombinantes. El polinucleótido exógeno puede mantenerse como un vector no integrado, por ejemplo, un plásmido, o de manera alternativa, puede estar integrado en el genoma huésped.

15 Como se usa en esta invención, el término "medio" o "medios" incluye cualquier medio de cultivo, solución, soporte sólido, semisólido o rígido que pueda soportar o contener cualquier célula huésped, incluyendo células huésped bacterianas, células huésped de levadura, células huésped de insectos, células huésped de plantas, células huésped eucariotas, células huésped de mamíferos, células de CHO, células huésped procariotas, células huésped de E. coli o Pseudomonas, y contenido celular. Por lo tanto, el término puede abarcar el medio en el que se ha desarrollado la

20 célula huésped, por ejemplo, el medio en el que se ha secretado la proteína, incluido el medio antes o después de una etapa de proliferación. El término también puede abarcar tampones o reactivos que contienen lisados de células huésped, como en el caso de que un heteromultímero descrito en esta invención se produzca intracelularmente y las células huésped se lisen o se rompan para liberar el heteromultímero.

25 "Re-plegado", como se usa en esta invención, describe cualquier procedimiento, reacción o procedimiento que transforma polipéptidos que contienen enlaces disulfuro de un estado plegado o no plegado incorrectamente a una conformación nativa o plegada adecuadamente con respecto a los enlaces disulfuro.

"Co-plegado", como se usa en esta invención, se refiere específicamente a procedimientos de replegamiento, reacciones o procedimientos que emplean al menos dos polipéptidos monoméricos que interactúan entre sí y dan como resultado la transformación de polipéptidos no plegados o plegados incorrectamente a polipéptidos nativos, debidamente plegados.

Como se usa en esta invención, el término "vida media en suero modulada" significa el cambio positivo o negativo en la vida media en circulación de un polipéptido de carga que está comprendido por un heteromultímero descrito en esta invención relativo a su forma nativa. La vida media en suero se mide tomando muestras de sangre en varios instantes de tiempo después de la administración de heteromultímero, y determinando la concentración de esa molécula en cada muestra. La correlación de la concentración sérica con el tiempo permite el cálculo de la vida media del suero. Deseablemente, la vida media incrementada del suero tiene al menos aproximadamente dos veces, pero un aumento

35 menor puede ser útil, por ejemplo, cuando permite un régimen de dosificación satisfactorio o evita un efecto tóxico. En algunas realizaciones, el aumento es al menos aproximadamente tres veces, al menos aproximadamente cinco veces o al menos aproximadamente diez veces.

El término "vida media terapéutica modulada" como se usa en esta invención significa el cambio positivo o negativo en la vida media de la cantidad terapéuticamente efectiva de un polipéptido de carga comprendido por un heteromultímero descrito en esta invención, en relación con su forma no modificada. La vida media terapéutica se determina midiendo las propiedades farmacocinéticas y/o farmacodinámicas de la molécula en varios instantes de tiempo después de la administración. El aumento de la vida media terapéutica deseablemente permite un régimen de dosificación beneficioso particular, una dosis total beneficiosa particular, o evita un efecto no deseado. En algunas realizaciones, el aumento de la vida media terapéutica resulta de una mayor potencia, aumento o disminución de la

45 unión de la molécula modificada a su diana, aumento o disminución de la descomposición de la molécula por enzimas tales como proteasas, o un aumento o disminución en otro parámetro o mecanismo de acción de la molécula no modificada o un aumento o disminución en la eliminación de la molécula mediada por el receptor.

55 El término "aislado", cuando se aplica a un ácido nucleico o proteína, denota que el ácido nucleico o proteína está libre de al menos algunos de los componentes celulares con los que está asociado en el estado natural, o que el ácido nucleico o la proteína se ha concentrado a un nivel mayor que la concentración de su producción in vivo o in vitro. Puede estar en un estado homogéneo. Las sustancias aisladas pueden estar en estado seco o semiseco, o en solución, incluida, entre otras, una solución acuosa. Puede ser un componente de una composición farmacéutica que

60 comprende vehículos y/o excipientes farmacéuticamente aceptables adicionales. La pureza y la homogeneidad se

determinan típicamente usando técnicas de química analítica como la electroforesis en gel de poliacrilamida o cromatografía líquida de alto rendimiento. Una proteína que es la especie predominante presente en una preparación está sustancialmente purificada. En particular, un gen aislado se separa de los marcos de lectura abiertos que flanquean el gen y codifican una proteína distinta del gen de interés. El término "purificado" denota que un ácido nucleico o proteína da lugar sustancialmente a una banda en un gel electroforético. En particular, puede significar que el ácido nucleico o la proteína es al menos 85 % puro, al menos 90 % puro, al menos 95 % puro, al menos 99 % o más puro.

El término "ácido nucleico" se refiere a desoxirribonucleótidos, desoxirribonucleósidos, ribonucleósidos o ribonucleótidos y polímeros de los mismos en forma de cadena simple o doble. A menos que se restrinja de manera específica, el término abarca los ácidos nucleicos que contienen análogos conocidos de nucleótidos naturales que poseen propiedades de unión similares a las del ácido nucleico de referencia y que se metabolizan de manera similar a los nucleótidos de origen natural. A menos que se especifique de otra forma, el término también hace referencia a análogos de oligonucleótidos incluyendo APN (ácido peptidonucleico), análogos de ADN utilizados en tecnología antisentido (fosforotioatos, fosforamidatos y similares). A menos que se indique lo contrario, una secuencia de ácidos nucleicos particular también comprende de manera implícita las variantes modificadas de manera conservativa de la misma (inclusive, sin limitación, sustituciones de codones redundantes) y secuencias complementarias así como también la secuencia indicada de manera explícita. Específicamente, las sustituciones de codones degenerados se pueden lograr mediante la generación de secuencias en las que la tercera posición de uno o más codones seleccionados (o todos) se sustituye con residuos de base mixta y/o desoxiinosina (Batzner y col., *Nucleic Acid Res.* 19:5081 (1991); Ohtsuka y col., *J. Biol. Chem.* 260:2605-2608 (1985); Rossolini y col., *Mol. Cell. Probes* 8:91-98 (1994)).

Los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína" se usan indistintamente en esta invención para referirse a un polímero de residuos de aminoácidos. Es decir, una descripción dirigida a un polipéptido se aplica de la misma forma a una descripción de un péptido y a una descripción de una proteína y viceversa. Los términos se aplican a polímeros de aminoácidos de origen natural así como también a polímeros de aminoácidos en los que uno o más residuos de aminoácidos son un aminoácido codificado no naturalmente. Tal como se usa en esta invención, los términos comprenden cadenas de aminoácidos de cualquier longitud, incluyendo proteínas de longitud completa, donde los residuos de aminoácidos están unidos mediante enlaces peptídicos covalentes.

El término "aminoácido" se refiere a aminoácidos de origen natural y no natural, así como a análogos de aminoácidos y miméticos de aminoácidos que funcionan de manera similar a los aminoácidos de origen natural. Los aminoácidos codificados de forma natural son los 20 aminoácidos comunes (alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina, y valina) y pirrolisina y selenocisteína. Análogos de aminoácidos hace referencia a compuestos que tienen la misma estructura química básica que un aminoácido de origen natural, es decir, un carbono que está unido a un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino y un grupo R, tal como homoserina, norleucina, sulfóxido de metionina, sulfonio metílico de metionina. Dichos análogos tienen grupos R modificados (como norleucina) o cadenas principales de péptidos modificados, pero conservan la misma estructura química básica que un aminoácido natural. La referencia a un aminoácido incluye, por ejemplo, L-aminoácidos proteogénicos naturales; D-aminoácidos, aminoácidos modificados químicamente tales como variantes de aminoácidos y derivados; aminoácidos no proteogénicos de origen natural tales como β -alanina, ornitina, etc.; y compuestos sintetizados químicamente que tienen propiedades conocidas en la técnica como características de aminoácidos. Ejemplos de aminoácidos no naturales incluyen, pero no se limitan a, α -metilo aminoácidos (por ejemplo, α -metil alanina), D-aminoácidos, aminoácidos tipo histidina (por ejemplo, 2-amino-histidina, β -hidroxi-histidina, homohistidina), aminoácidos que tienen un metileno extra en la cadena lateral (aminoácidos "homo") y aminoácidos en los que un grupo funcional de ácido carboxílico en la cadena lateral se reemplaza con un grupo de ácido sulfónico (por ejemplo, ácido cisteico). La incorporación de aminoácidos de origen no natural, que incluyen aminoácidos sintéticos no naturales, aminoácidos sustituidos o uno o más aminoácidos D a las proteínas de la presente invención, puede ser ventajosa en una cantidad de maneras diferentes. Péptidos que contienen aminoácidos D, etc., exhiben estabilidad aumentada in vitro o in vivo en comparación con las contrapartes que contienen aminoácidos L. Por lo tanto, las construcciones de péptidos, etc., que incorporan aminoácidos D, pueden ser particularmente útiles cuando se desea o se necesita mayor estabilidad intracelular. Más específicamente, los péptidos D, etc., son resistentes a peptidasas y proteasas endógenas, lo que proporciona una biodisponibilidad mejorada de la molécula y tiempos de vida prolongados in vivo cuando se deseen tales propiedades. Además, los péptidos D, etc., no pueden procesarse eficazmente para presentación restringida de clase II del complejo de histocompatibilidad principal a células T auxiliares, y, por lo tanto, es menos probable que induzcan respuestas inmunes humorales en todo el organismo.

Se puede hacer referencia a los aminoácidos en esta invención por sus símbolos de tres letras comúnmente conocidos

o por los símbolos de una letra recomendados por la Comisión de Nomenclatura Bioquímica IUPAC-IUB. De manera similar, se puede hacer referencia a los nucleótidos mediante sus códigos de letras individuales comúnmente aceptados.

- 5 "Variantes conservativamente modificadas" se aplican tanto a las secuencias de aminoácidos como a las de ácidos nucleicos. Con respecto a secuencias particulares de ácidos nucleicos, "variantes modificadas conservativamente" se refiere a aquellos ácidos nucleicos que codifican secuencias de aminoácidos idénticas o esencialmente idénticas, o donde el ácido nucleico no codifica una secuencia de aminoácidos, a secuencias esencialmente idénticas. Debido a la degradación del código genético, una gran cantidad de ácidos nucleicos funcionalmente idénticos codifican cualquier
- 10 proteína dada. Por ejemplo, todos los codones GCA, GCC, GCG y GCU codifican el aminoácido alanina. Por lo tanto, en cada posición donde una alanina se especifica por un codón, el codón se puede alterar para obtener cualquiera de los codones correspondientes descritos sin alterar el polipéptido codificado. Dichas variaciones de ácidos nucleicos son "variaciones silenciosas", que son una especie de variaciones conservativamente modificadas. Cada secuencia de ácidos nucleicos en esta invención que codifica un polipéptido también describe cada variación silenciosa posible
- 15 del ácido nucleico. Un experto en la materia reconocerá que cada codón en un ácido nucleico (excepto AUG, que normalmente es el único codón para la metionina, y TGG, que normalmente es el único codón para el triptófano) puede modificarse para producir una molécula funcionalmente idéntica. Por consiguiente, cada variación silenciosa de un ácido nucleico que codifica un polipéptido está implícita en cada secuencia descrita.
- 20 En cuanto a las secuencias de aminoácidos, un experto en la materia reconocerá que las sustituciones, deleciones o adiciones individuales a un ácido nucleico, péptido, polipéptido o secuencia de proteínas que altera, agrega o elimina un solo aminoácido o un pequeño porcentaje de aminoácidos en la secuencia codificada es una "variante conservativamente modificada" donde la alteración resulta en la delección de un aminoácido, la adición de un aminoácido o la sustitución de un aminoácido con un aminoácido químicamente similar. Las tablas de sustitución
- 25 conservativas que proporcionan aminoácidos funcionalmente similares son conocidas por los expertos en la materia. Dichas variantes conservativamente modificadas son adicionales y no excluyen variantes polimórficas, homólogos entre especies y alelos de la invención.

Los expertos en la materia conocen las tablas de sustitución conservativas que proporcionan aminoácidos

30 funcionalmente similares. Los siguientes ocho grupos contienen cada uno aminoácidos que son sustituciones conservativas entre sí:

- 1) Alanina (A), Glicina (G);
- 2) Ácido aspártico (D), Ácido glutámico (E);
- 35 3) Asparagina (N), Glutamina (Q);
- 4) Arginina (R), Lisina (K);
- 5) isoleucina (I), leucina (L), Metionina (M), Valina (V);
- 6) Fenilalanina (F), Tirosina (Y), Triptófano (W);
- 7) Serina (S), Treonina (T); y
- 40 8) Cisteína (C), Metionina (M) (ver, por ejemplo, Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties* (W.H. Freeman & Co.; 2ª edición (diciembre de 1993)

Los términos "idéntico" o "identidad" porcentual, en el contexto de dos o más ácidos nucleicos o secuencias de polipéptidos, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales. Secuencias son "sustancialmente

45 idénticas" si tienen un porcentaje de residuos de aminoácidos o nucleótidos que son iguales (es decir, aproximadamente 60 % de identidad, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, o aproximadamente 95 % de identidad en una región específica), cuando se compara y se alinea para obtener la correspondencia máxima en una ventana de comparación, o región designada según se mide utilizando uno de los siguientes algoritmos de comparación de

50 secuencias (u otros algoritmos disponibles para personas de habilidad ordinaria en la materia) o por alineación manual e inspección visual. Esta definición también hace referencia al complemento de una secuencia de prueba. La identidad puede existir con respecto a una región con una longitud de al menos aproximadamente 50 aminoácidos o nucleótidos o con respecto a una región con una longitud de al menos aproximadamente 75-100 aminoácidos o nucleótidos, o, cuando no se especifique, a través de la secuencia completa de un polinucleótido o polipéptido. Se puede obtener un

55 polinucleótido que codifica un polipéptido de la presente invención, que incluye homólogos de especies distintas a la humana, mediante un procedimiento que comprende las etapas de seleccionar una biblioteca en condiciones de hibridación rigurosas con una sonda marcada que tiene una secuencia de polinucleótidos de la invención o un fragmento de la misma, y aislar ADNc de longitud completa y clones genómicos que contienen dicha secuencia de polinucleótidos. Dichas técnicas de hibridación son bien conocidas por los expertos en la materia.

60

Para comparación de secuencia, usualmente una secuencia actúa como una secuencia de referencia con la que se comparan las secuencias de prueba. Cuando se usa un algoritmo de comparación de secuencias, se ingresan secuencias de prueba y de referencia en un ordenador, se designan coordenadas de subsecuencias, si fuera necesario, y se designan parámetros de programas de algoritmos de secuencias. Pueden usarse parámetros de programas por defecto o pueden designarse parámetros alternativos. A continuación, el algoritmo de comparación de secuencias calcula el porcentaje de identidad de secuencia para las secuencias de prueba en relación con la secuencia de referencia, basándose en los parámetros de programas.

Una "ventana de comparación", como se usa en esta invención, incluye referencia a un segmento de cualquiera del número de posiciones contiguas seleccionadas del grupo que consiste de 20 a 600, usualmente de aproximadamente 50 a aproximadamente 200, más usualmente de aproximadamente 100 a aproximadamente 150 en el cual una secuencia se puede comparar con una secuencia de referencia del mismo número de posiciones contiguas después de que las dos secuencias estén alineadas de manera óptima. Procedimientos de alineación de secuencias para comparación son bien conocidos a los expertos en la materia. El alineamiento óptimo de secuencias para comparación puede realizarse, incluyendo, sin limitación, mediante el algoritmo de homología local de Smith y Waterman (1970) Adv. Appl. Math. 2:482c, mediante el algoritmo de alineamiento por homología de Needleman y Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48:443, mediante la búsqueda del procedimiento de similitud de Pearson y Lipman (1988) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444, mediante implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.), o mediante alineación manual e inspección visual (ver, por ejemplo, Ausubel y col., Current Protocols in Molecular Biology (1995 suplemento)).

Un ejemplo de un algoritmo que es adecuado para determinar el porcentaje de identidad de secuencia y la similitud de secuencia son los algoritmos BLAST y BLAST 2.0, que se describen en Altschul y col. (1997) Nuc. Acids Res. 25:3389-3402, y Altschul y col. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410, respectivamente. El software para la realización de los análisis BLAST se encuentra disponible al público a través del sitio web del National Center for Biotechnology Information (Centro Nacional para la Información Biotecnológica) en internet en ncbi.nlm.nih.gov. Los parámetros W, T y X del algoritmo BLAST determinan la sensibilidad y la velocidad del alineamiento. El programa BLASTN (para secuencias de nucleótidos) usa por defecto una longitud de palabra (W) de 11, una expectativa (E) de 10, M=5, N=-4 y una comparación de ambas cadenas. Para secuencias de aminoácidos, el programa BLASTP utiliza por defecto una longitud de palabra (W) de 3, y una expectativa (E) de 10 y la matriz de valor BLOSUM62 (ver Henikoff y Henikoff, (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU. 89:10915) alineaciones (B) de 50, expectativa (E) de 10, M=5, N=-4, y una comparación de ambas cadenas. El algoritmo BLAST se realiza típicamente con el filtro de "baja complejidad" desactivado.

El algoritmo BLAST también realiza un análisis estadístico de la similitud entre dos secuencias (ver, por ejemplo, Karlin y Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU. 90:5873-5787). Una medida de similitud proporcionada por el algoritmo BLAST es la menor probabilidad de suma ($P(N)$), la que es una indicación de la probabilidad de que una coincidencia entre dos secuencias de nucleótidos o aminoácidos ocurra por casualidad. Por ejemplo, un ácido nucleico se considera similar a una secuencia de referencia si la probabilidad de suma más pequeña en una comparación del ácido nucleico de prueba con el ácido nucleico de referencia es menor que aproximadamente 0,2, o menor que aproximadamente 0,01, o menor que aproximadamente 0,001.

La frase "hibrida selectivamente (o específicamente)" se refiere a la unión, duplicación o hibridación de una molécula solo a una secuencia de nucleótidos particular en condiciones de hibridación rigurosas cuando esa secuencia está presente en una mezcla compleja (incluyendo, sin limitación, ADN o ARN total celular o de biblioteca).

La frase "condiciones de hibridación rigurosas" se refiere a la hibridación de secuencias de ADN, ARN u otros ácidos nucleicos, o combinaciones de los mismos en condiciones de baja fuerza iónica y alta temperatura como se conoce en la técnica. Típicamente, en condiciones estrictas, una sonda se hibridará con su subsecuencia diana en una mezcla compleja de ácido nucleico (que incluye, pero no se limita a, ADN o ARN total celular o de biblioteca) pero no se hibrida con otras secuencias en la mezcla compleja. Condiciones rigurosas dependen de las secuencias y diferirán en circunstancias diferentes. Las secuencias más largas se hibridan de forma específica a temperaturas más elevadas. Una extensa guía para la hibridación de ácidos nucleicos se encuentra en Tijssen, Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology--Hybridization with Nucleic Probes, "Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid assays" (1993).

Como se usa en esta invención, el término "eucariota" se refiere a organismos que pertenecen al dominio filogenético Eucarya, tales como animales (incluidos, entre otros, mamíferos, insectos, reptiles, pájaros, etc.), ciliados, plantas (incluidos, entre otros, monocotiledóneas, dicotiledóneas, algas, etc.), hongos, levaduras, flagelados, microsporidios,

protistas, etc.

Como se usa en esta invención, el término "procariota" se refiere a organismos procariotas. Por ejemplo, un organismo no eucariota puede pertenecer al dominio filogenético de Eubacteria (que incluye, sin limitación, *Escherichia coli*, *Thermus thermophilus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, etc.) o al dominio filogenético de Archaea (que incluye, sin limitación, *Methanococcus jannaschii*, *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Halobacterium* tal como *Haloferax volcanii* y especie *Halobacterium* NRC-1, *Archaeoglobus fulgidus*, *Pyrococcus furiosus*, *Pyrococcus horikoshii*, *Aeopyrum pemix*, etc.).

10 El término "sujeto", como se usa en esta invención, se refiere a un animal, en algunas realizaciones, un mamífero, y en otras realizaciones, un ser humano, que es objetivo de tratamiento, observación o experimento. Un animal puede ser un animal de compañía (por ejemplo, perros, gatos y similares), un animal de granja (por ejemplo, vacas, ovejas, cerdos, caballos y similares) o un animal de laboratorio (por ejemplo, ratas, ratones, cobayas y similares).

15 El término "cantidad efectiva" tal como se usa en esta invención se refiere a la cantidad de heteromultímero que se administra, que aliviará en cierta medida uno o más de los síntomas de la enfermedad, afección o trastorno que se está tratando. Las composiciones que contienen el heteromultímero descrito en esta invención pueden administrarse para tratamientos profilácticos, de mejora y/o terapéuticos.

20 Los términos "mejorar" o "mejoría" significan aumentar o prolongar en potencia o duración un efecto deseado. Por lo tanto, con respecto al aumento del efecto de los agentes terapéuticos, el término "mejorar" se refiere a la capacidad de aumentar o prolongar, ya sea en potencia o duración, el efecto de otros agentes terapéuticos en un sistema. Una "cantidad efectiva potenciadora", como se usa en esta invención, se refiere a una cantidad adecuada para mejorar el efecto de otro agente terapéutico en un sistema deseado. Cuando se usa en un paciente, las cantidades efectivas para este uso dependerán de la gravedad y del curso de la enfermedad, trastorno o afección, la terapia previa, el estado de salud del paciente y la respuesta a los fármacos, y el juicio del médico tratante.

30 El término "modificado", como se usa en esta invención, se refiere a cualquier cambio realizado en un polipéptido dado, tal como cambios en la longitud del polipéptido, la secuencia de aminoácidos, la estructura química, la modificación cotraduccional o la modificación postraduccional de un polipéptido. El término de forma "(modificado)" significa que los polipéptidos que se tratan se modifican opcionalmente, es decir, los polipéptidos tratados pueden modificarse o no modificarse.

35 El término "modificado postraduccionalmente" se refiere a cualquier modificación de un aminoácido natural o no natural que se produce a dicho aminoácido después de que se ha incorporado a una cadena polipeptídica. La expresión abarca, a modo de ejemplo solamente, las modificaciones cotraduccionales in vivo, las modificaciones cotraduccionales in vitro (tales como en un sistema de traducción sin células), las modificaciones postraduccionales in vivo y las modificaciones postraduccionales in vitro.

40 El término "segmentación" se refiere a un splicing interno preciso de la secuencia de proteína original que da como resultado "segmentos" de la secuencia de proteína que se asocian preferentemente como heteromultímeros para formar una estructura proteica cuasi-nativa. Alternativamente, la segmentación puede incluir la delección de más de un residuo de aminoácido. En una realización, la delección es residuo de un aminoácido. En otra realización, la delección son residuos de dos aminoácidos. En otra realización, la delección son residuos de tres aminoácidos.

45

Estructura Monomérica Cuasi-nativa:

Con referencia a una proteína nativa monomérica o su estructura, las proteínas cuasi-nativas y/o 'estructuras cuasi-nativas' o estructuras monoméricas cuasi-nativas son conjuntos de polipéptidos de heteromultímero derivado de segmentos de la proteína nativa monomérica de tal manera que dichos conjuntos de heteromultímeros presentan características funcionales y estructurales comparables a la proteína nativa monomérica. En algunas realizaciones, los segmentos son componentes de una construcción de polipéptidos que también comprenden otras entidades moleculares. Las proteínas son moléculas naturalmente dinámicas y muestran un conjunto de configuraciones estructurales, aunque le atribuimos una estructura nativa, como la obtenida por cristalografía de rayos X. Se puede considerar que las estructuras cuasi-nativas se asemejan a una de las configuraciones estructurales alternativas en el conjunto. En un frente diferente, secuencias de proteínas homólogas o proteínas que pertenecen a familias estructurales comunes tienden a plegarse en geometrías estructurales similares. Se puede considerar que las proteínas miembros que pertenecen a esta familia logran una estructura cuasi-nativa entre sí. Algunas de las secuencias únicas en la familia de proteínas también podrían exhibir atributos funcionales similares y, por lo tanto, pueden denominarse proteínas cuasi-nativas entre sí. En el caso de los heteromultímeros descritos en esta invención

60

que comprenden dos o más construcciones de polipéptidos, cada uno de los cuales tiene un componente de polipéptido transportador, los polipéptidos transportadores se ensamblan para formar una estructura cuasi-nativa similar a la forma monomérica nativa de la proteína de la que se derivan los polipéptidos transportadores. La proteína nativa de referencia en este caso es la proteína monomérica a partir de la cual se deriva cada polipéptido transportador y la estructura nativa de referencia es la estructura de la proteína de la cual se deriva el polipéptido transportador. Describimos un caso en el que dos o más polipéptidos diferentes se autoensamblan para formar un heteromultímero con características estructurales y funcionales comparables a la proteína nativa, que en sí misma es una entidad monomérica. En algunas realizaciones, el heteromultímero ensamblado tiene al menos un 50 % de la actividad de la proteína nativa monomérica. En algunas realizaciones, el heteromultímero ensamblado tiene al menos un 60 % de la actividad de la proteína nativa monomérica. En realizaciones específicas, el heteromultímero ensamblado tiene al menos un 75 % de la actividad de la proteína nativa monomérica. En algunas realizaciones, el heteromultímero ensamblado tiene al menos un 80 % de la actividad de la proteína nativa monomérica. En realizaciones particulares, el heteromultímero ensamblado tiene al menos un 90 % de la actividad de la proteína nativa monomérica. En algunas realizaciones, el heteromultímero ensamblado tiene al menos un 95 % de la actividad de la proteína nativa monomérica. En algunas realizaciones, el heteromultímero ensamblado tiene al menos un 99 % de la actividad de la proteína nativa monomérica. En ciertas realizaciones proporcionadas, heteromultímeros que comprenden polipéptidos transportadores derivados de albúmina o aloalbúmina de modo que los polipéptidos transportadores se autoensamblan para formar un heteromultímero que exhibe características estructurales y/o funcionales semejantes a albúmina nativa como unión a FcRn, SPARC y/o gp60. En ciertas realizaciones, los heteromultímeros comprenden polipéptidos transportadores, cada polipéptido transportador comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 % de identidad de secuencia con un segmento de aminoácidos obtenido de la proteína monomérica nativa. En algunas realizaciones, los heteromultímeros comprenden polipéptidos transportadores, cada polipéptido transportador comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 80 % de identidad de secuencia con un segmento de aminoácidos obtenido de la proteína monomérica nativa. En realizaciones ejemplares, los heteromultímeros comprenden polipéptidos transportadores, cada polipéptido transportador comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia con un segmento de aminoácidos obtenido de la proteína monomérica nativa. En realizaciones específicas, los heteromultímeros comprenden polipéptidos transportadores, cada polipéptido transportador comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con un segmento de aminoácidos obtenido de la proteína monomérica nativa. En ciertas realizaciones, los heteromultímeros comprenden polipéptidos transportadores, cada polipéptido transportador comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con un segmento de aminoácidos obtenido de la proteína monomérica nativa. En algunas realizaciones, los heteromultímeros comprenden polipéptidos transportadores, cada polipéptido transportador comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 99 % de identidad de secuencia con un segmento de aminoácidos obtenido de la proteína monomérica nativa. En algunas realizaciones, la proteína monomérica nativa es una albúmina de mamífero o derivado o análogo de la misma. En ciertas realizaciones, la proteína monomérica nativa es albúmina de suero humano. En ciertas realizaciones, presentamos segmentos de polipéptidos derivados de transferrina que se autoensamblan para formar un heteromultímero que exhibe características estructurales y funcionales de transferrina nativa. En ciertas realizaciones, presentamos segmentos de polipéptidos derivados de anexina que se autoensamblan para formar un heteromultímero que exhibe características estructurales y funcionales de anexina nativa. Estos heteromultímeros se denominan cuasi-nativos.

Polipéptido transportador

Como se usa en esta invención, el término "polipéptido transportador" o "péptido transportador" o "transportador" se refiere a un polipéptido, de modo que dicho polipéptido transportador es capaz de formar proteínas heteromultiméricas con otros polipéptidos transportadores en solución, y donde dichas proteínas heteromultiméricas tienen una estructura cuasi-nativa de una proteína monomérica de la que se deriva al menos un polipéptido transportador. En ciertas realizaciones de los heteromultímeros descritos en esta invención, todos los polipéptidos transportadores se derivan de la misma proteína de albúmina o aloalbúmina. En ciertas otras realizaciones, los heteromultímeros están formados por polipéptidos transportadores derivados de diversas proteínas de albúmina y aloalbúmina. En ciertas realizaciones de los heteromultímeros descritos en esta invención, los polipéptidos transportadores se derivan de transferrina. En ciertas realizaciones de los heteromultímeros descritos en esta invención, los polipéptidos transportadores se derivan de proteínas de anexina. En ciertas otras realizaciones, los heteromultímeros están formados por polipéptidos transportadores derivados de la misma proteína de anexina. En ciertas otras realizaciones, los heteromultímeros están formados por polipéptidos transportadores derivados de diferentes proteínas de anexina. En una realización, los heteromultímeros están formados por polipéptidos transportadores derivados de anexina A2.

En ciertas realizaciones, los polipéptidos transportadores son segmentos de una proteína entera monomérica, donde dichos segmentos son capaces de ensamblarse para formar un heteromultímero de tal manera que dicho

heteromultímero forme una estructura cuasi-nativa similar a la proteína entera monomérica nativa. En una realización, los polipéptidos transportadores son segmentos de una proteína barril beta. En ciertas realizaciones, se proporcionan heteromultímeros que comprenden polipéptidos transportadores que se ensamblan para formar una estructura cuasi-nativa similar a una proteína monomérica nativa, comprendiendo cada polipéptido transportador una secuencia de aminoácidos con al menos un 50 % de identidad con un segmento de la proteína monomérica nativa. En ciertas realizaciones, se proporcionan heteromultímeros que comprenden polipéptidos transportadores que se ensamblan para formar una estructura cuasi-nativa similar a una proteína monomérica nativa, comprendiendo cada polipéptido transportador una secuencia de aminoácidos con al menos un 60 % de identidad con un segmento de la proteína monomérica nativa. En ciertas realizaciones, se proporcionan heteromultímeros que comprenden polipéptidos transportadores que se ensamblan para formar una estructura cuasi-nativa similar a una proteína monomérica nativa, comprendiendo cada polipéptido transportador una secuencia de aminoácidos con al menos un 75 % de identidad con un segmento de la proteína monomérica nativa. En ciertas realizaciones, se proporcionan heteromultímeros que comprenden polipéptidos transportadores que se ensamblan para formar una estructura cuasi-nativa similar a una proteína monomérica nativa, comprendiendo cada polipéptido transportador una secuencia de aminoácidos con al menos un 80 % de identidad con un segmento de la proteína monomérica nativa. En ciertas realizaciones, se proporcionan heteromultímeros que comprenden polipéptidos transportadores que se ensamblan para formar una estructura cuasi-nativa similar a una proteína monomérica nativa, comprendiendo cada polipéptido transportador una secuencia de aminoácidos con al menos un 90 % de identidad con un segmento de la proteína monomérica nativa. En ciertas realizaciones, se proporcionan heteromultímeros que comprenden polipéptidos transportadores que se ensamblan para formar una estructura cuasi-nativa similar a una proteína monomérica nativa, comprendiendo cada polipéptido transportador una secuencia de aminoácidos con al menos un 95 % de identidad con un segmento de la proteína monomérica nativa. En ciertas realizaciones, se proporcionan heteromultímeros que comprenden polipéptidos transportadores que se ensamblan para formar una estructura cuasi-nativa similar a una proteína monomérica nativa, comprendiendo cada polipéptido transportador una secuencia de aminoácidos con al menos un 99 % de identidad con un segmento de la proteína monomérica nativa. En una realización, la proteína monomérica nativa es proteína hélice beta. En algunas realizaciones, la proteína monomérica nativa es una proteína en haz helicoidal. En realizaciones, los polipéptidos transportadores se generan, por ejemplo, pero no se limitan a proteínas que comprenden un motivo de dedo de zinc, un motivo de hélice-giro-hélice o un motivo de horquilla beta. En algunas realizaciones, los polipéptidos transportadores comprenden segmentos obtenidos de proteínas no inmunogénicas que son estructuralmente estables y tienen propiedades biológicas favorables.

Los polipéptidos transportadores se derivan de una proteína mediante segmentación de la proteína en un sitio de segmentación. El sitio de segmentación está diseñado basado en los siguientes dos criterios de decisión.

Primero, el sitio de segmentación se selecciona de tal manera que resida en un lazo dentro de la proteína que tenga un alto SASA relativo y un contacto limitado con el resto de la estructura de la proteína. En una realización, el sitio de segmentación reside en un lazo que es flexible y accesible. En otra realización, el sitio de segmentación reside en un lazo que es menos probable que contribuya a la estabilidad del núcleo de la proteína y, por lo tanto, afecte la estabilidad de la estructura de la proteína cuasi-nativa ensamblada en relación con la estructura de la proteína intacta.

En segundo lugar, el sitio de segmentación se selecciona de modo que dé como resultado una interfaz complementaria entre los polipéptidos transportadores, donde la interfaz es apolar, extensa e interdigitada. La apolaridad de la interfaz se relaciona con el número de aminoácidos apolares en la interfaz. Como se sabe en la técnica, los aminoácidos pueden clasificarse ampliamente como residuos polares y apolares. Mientras que los residuos polares interactúan favorablemente con el agua en el ambiente solvente, los residuos apolares no hacen contacto energéticamente favorable con el agua. Por esta razón, los residuos apolares en una proteína tienden a agruparse con otros residuos apolares y excluyen las moléculas de agua de su entorno local y esto es energéticamente favorable. Dichas interacciones que implican residuos apolares también se denominan contacto hidrófobo.

El área superficial enterrada en la interfaz se deriva de la pérdida en la superficie accesible molecular o solvente entre los estados no asociados y asociados de los dos polipéptidos que interactúan. En una realización, el área enterrada de la interfaz está entre aproximadamente 6000 Å² y aproximadamente 2000 Å². En otra realización, el área enterrada de la interfaz está entre aproximadamente 4000 Å² y aproximadamente 2000 Å². En otra realización, el área enterrada de la interfaz está entre aproximadamente 3000 Å² y aproximadamente 2000 Å². En una realización, la contribución apolar al área enterrada de la interfaz es mayor del 50 % del área de superficie enterrada neta en la interfaz.

Con respecto a la interfaz y su interdigitación, un factor importante que impulsa cualquier interacción proteína-proteína y formación de complejo es el contacto de los residuos superficiales en la interfaz formada entre las dos proteínas en contacto. La complementariedad fisicoquímica y estructural de las dos superficies proteicas en contacto en la forma asociada es un sello distintivo de la formación de complejos favorables y estables. La complementariedad fisicoquímica

- se define por las interacciones preferibles y podría comprender enlaces de hidrógeno, puentes de sal basados en carga, varios tipos de interacciones electrostáticas, contactos hidrófobos y de van der Waals a través de la superficie de las proteínas que interactúan. La superficie de la proteína en el nivel tridimensional se define por protuberancias y cavidades formadas debido a las diferencias en tamaño y orientación de varios aminoácidos que constituyen la región de la superficie. En una interfaz proteína-proteína favorable, las protuberancias y las cavidades de las dos superficies proteicas que interactúan se interdigitan para dar como resultado una complementariedad estructural. Cuanto mayor y más extensa es la interfaz entre las proteínas que interactúan, el contacto proteína-proteína es potencialmente más estable.
- 10 En una realización, la interfaz entre los dos polipéptidos transportados es rica en residuos de focos, es decir, residuos individuales o grupo de residuos implicados en una red de interacciones bien conectadas. Las interacciones podrían basarse en interacciones típicas observadas en proteínas tales como enlaces de hidrógeno, interacciones de residuos cargados como puentes salinos, contactos de van der Waals que muestran una fuerte complementariedad estructural y clusters de residuos hidrófobos. Esto maximiza la estabilidad de la interfaz e impide que el complejo se disocie.
- 15 En una realización, el sitio de segmentación se selecciona para retener un enlace disulfuro natural presente en la proteína de la que se derivan los polipéptidos transportadores, a través de las secciones segmentadas para conectar covalentemente los dos segmentos. El objetivo era aumentar aún más la estabilidad de la estructura heterodimerizante cuasi-nativa similar a proteína que se autoensambla a partir de los dos segmentos derivados después de la segmentación. En esta realización, se eligen regiones de lazo en la secuencia de proteínas que satisfacen los criterios de disulfuro descritos en esta invención, es decir, tienen un disulfuro muy cerca del sitio de segmentación en la región del lazo. Además de la función de entrecruzar covalentemente las dos cadenas, este disulfuro también podría servir como un sustituto para que el lazo esté abierto.
- 25 En otro aspecto descrito en esta invención, un enlace disulfuro a través de los dos segmentos está diseñado mediante la introducción de aminoácidos individuales a mutaciones de cisteína en posiciones seleccionadas en cada uno de los dos segmentos derivados.
- En otra realización, diseñamos aminoácidos en la interfaz de los dos segmentos para aumentar o mejorar aún más los focos en la interfaz o mejorar la complementariedad estructural y fisicoquímica entre los dos segmentos en la estructura de albúmina cuasi-nativa el ensamblada.
- 30

Albúmina

- 35 Como se usa en esta invención, "albúmina" se refiere colectivamente a la proteína de albúmina o secuencia de aminoácidos, o un segmento o variante de albúmina, que tiene una o más actividades funcionales (por ejemplo, actividades biológicas) de albúmina. En particular, "albúmina" se refiere a albúmina humana o segmentos de la misma (ver, por ejemplo, EP 201 239, EP 322 094, WO 97/24445, WO95/23857) especialmente la forma madura de albúmina humana como se muestra en la FIG. 1, o albúmina de otros vertebrados, o segmentos de la misma, o análogos o variantes de estas moléculas o fragmentos de las mismas. En ciertas realizaciones, la albúmina se refiere a una versión truncada de albúmina.
- El término "albúmina cuasi-nativa" se refiere a una molécula de heteromultímero que tiene una estructura y/o función similar a la albúmina completa, y donde dicha molécula de heteromultímero está formada por el conjunto de dos o más polipéptidos monoméricos diseñados en base a la secuencia de la albúmina completa. En ciertas realizaciones, los polipéptidos de interés en esta invención comprenden "segmentos" que se asocian preferentemente como pares heteromultiméricos para formar una proteína cuasi-nativa. En alguna realización, esta proteína cuasi-nativa es albúmina cuasi-nativa. En algunas realizaciones, la albúmina cuasi-nativa tiene el 90 % de la actividad de la albúmina completa. En algunas realizaciones, la albúmina cuasi-nativa tiene el 75 % de la actividad de la albúmina completa.
- 45 En algunas realizaciones, la albúmina cuasi-nativa tiene el 50 % de la actividad de la albúmina completa. En algunas realizaciones, la albúmina cuasi-nativa tiene el 50-75 % de la actividad de la albúmina completa. En una realización, la albúmina cuasi-nativa tiene el 80 % de la actividad de la albúmina completa. En algunas realizaciones, la albúmina cuasi-nativa retiene aproximadamente el 90 % de las características estructurales de la albúmina completa según se determina mediante modelado estructural. En algunas realizaciones, la albúmina cuasi-nativa retiene aproximadamente el 80 % de las características estructurales de la albúmina completa según se determina mediante modelado estructural. En algunas realizaciones, la albúmina cuasi-nativa retiene aproximadamente el 70 % de las características estructurales de la albúmina completa según se determina mediante modelado estructural. En algunas realizaciones, la albúmina cuasi-nativa retiene aproximadamente el 50 % de las características estructurales de la albúmina completa según se determina mediante modelado estructural. En algunas realizaciones, la albúmina cuasi-nativa retiene aproximadamente el 50-75 % de las características estructurales de la albúmina completa según se
- 50
- 55
- 60

determina mediante modelado estructural.

Los términos albúmina sérica humana (HSA) y albúmina humana (HA) se usan indistintamente en esta invención. Los términos "albúmina y albúmina sérica" son más amplios y abarcan la albúmina sérica humana (y fragmentos y variantes de la misma) así como la albúmina de otras especies (y fragmentos y variantes de las mismas).

En ciertas realizaciones, cada monómero basado en albúmina de las proteínas heteromultiméricas descritas en esta invención se basa en una variante de HA normal. Cada porción de polipéptido de carga de las proteínas heteromultiméricas de la invención también puede ser variantes de las proteínas terapéuticas como se describe en esta invención. El término "variantes" incluye inserciones, deleciones y sustituciones, ya sean conservativas o no conservativas, donde dichos cambios no alteran sustancialmente una o más de las propiedades oncóticas, de unión a ligando útiles y no inmunogénicas de la albúmina, o el sitio activo, o dominio activo que confiere las actividades terapéuticas de las proteínas terapéuticas. En ciertas realizaciones, las variantes también podrían significar especies alternativas de heteromultímeros derivadas segmentando la albúmina en ubicaciones alternativas en su secuencia primaria.

En ciertas realizaciones, las proteínas heteromultiméricas descritas en esta invención incluyen variantes polimórficas naturales de albúmina humana y fragmentos de albúmina humana, por ejemplo, aquellos fragmentos descritos en EP 322 094 (concretamente HA (Pn), donde n es 369 a 419).

En ciertas realizaciones, la albúmina se deriva de cualquier vertebrado, especialmente de cualquier mamífero que incluya, entre otros, humanos, vacas, ovejas, ratas, ratones, conejos, caballos, perros o cerdos. En ciertas realizaciones, la albúmina se deriva de albúminas no mamíferas que incluyen, entre otras, gallina y salmón.

La secuencia de albúmina humana es como se muestra, en la forma de preproteína con los residuos de señalización N-terminales MKWVTFISLLFLFSSAYSRRGVFRR:

SEQ ID NO: 1

MKWVTFISLLFLFSSAYSRRGVFRRDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQ
YLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETY
GEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYL
YEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAK
QRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDL
LECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAA
DFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCA
AADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQV
STPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRV
TKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALV
ELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFEEGKKLVAASQAALG

L

Aloalbúmina

Una aloalbúmina es una variante genética de albúmina. En ciertas realizaciones, la aloalbúmina es aloalbúmina humana (HAA). Aloalbuminas que difieren en movilidad electroforética de albúmina se han identificado a través de encuestas de genética de poblaciones en el curso de electroforesis clínica, o en encuestas de donantes de sangre. Como marcadores de mutación y migración, las aloalbúminas son de interés para los genetistas, bioquímicos y antropólogos, pero la mayoría de estas aloalbúminas no están asociadas con la enfermedad (Minchioti y col. Human Mutations 29 (8), 1007-1016 (2008)).

Tabla 1: Lista de sustituciones comprendidas por varias aloalbúminas en comparación con HA de SEQ ID NO: 1. Se proporciona termoestabilidad, información de vida media y otros HAA en Krogh-hansen y col. Biochim Biophys Acta 1747, 81-88 (2005); y WO2011051489.

Mutación	Termoestabilidad (C) (positivo = estabilizante, negativo = desestabilizador)	Efecto sobre la vida media (% de cambio)
H3Y	N/A	N/A
H3Q	N/A	N/A
Q32Stop	N/A	N/A
E60K	N/A	N/A
D63N	6,07	N/A
L66P	N/A	N/A
E82K	2,03	N/A
R114G	N/A	N/A
R114Stop	N/A	N/A
E119K	N/A	N/A
V122E	0,57	N/A
H128R	N/A	N/A
Y140C	N/A	N/A
A175Stop	N/A	N/A
C177F	-1,59	N/A
R218H	N/A	N/A
R218P	N/A	N/A
K225Q*	-4,86	N/A
K240E	N/A	N/A
E244Stop	N/A	N/A
Q268R	N/A	N/A
D269G	3,67	N/A
K276N	4,87	N/A
K313N	-7,16	N/A
D314G	-0,38	N/A
D314V	N/A	N/A
N318K	N/A	N/A
A320T, & -1R	N/A	6,16
E321K	1,42	N/A
E333K	-2,56	N/A
E354K	N/A	N/A
E358K	N/A	N/A
K359K	-6,56	N/A
D365H	0,89	N/A
D365V	N/A	N/A
E368G	N/A	N/A
K372E	N/A	N/A

Mutación	Termoestabilidad (C) (positivo = estabilizante, negativo = desestabilizador)	Efecto sobre la vida media (% de cambio)
D375N	N/A	N/A
D375H	-0,09	N/A
E376K	N/A	N/A
E376Q	N/A	N/A
E382K	N/A	N/A
Q385Stop	N/A	N/A
Y401Stop	N/A	N/A
R410C	N/A	N/A
E479K	N/A	N/A
D494N	N/A	0,84
E501K	0,13	N/A
E505K	1,87	N/A
I513N	N/A	N/A
V533M	N/A	N/A
K536E	N/A	N/A
K541E	6,12	N/A
D550G	N/A	N/A
D550A	N/A	N/A
K560E	0,70	N/A
D563N	4,17	N/A
E565K	N/A	N/A
E570K	-6,53	N/A
K573E	2,08	2,7
K574N	N/A	N/A
Inserción L575 (TCCC KSSCLRLITSHLKASQ PTMRIRERK)	-5,30	N/A
Desplazamiento de cuadro después de 567; Parada en 582	N/A	-5,7 %
Desplazamiento de cuadro después de 572; Parada en 578	N/A	-8,9 %

Anexina:

Como se usa en esta invención, "anexina" se refiere a un grupo de proteínas celulares encontradas en organismos eucariotas. La anexina también se conoce como lipocortina. Como se usa en esta invención, "anexina" puede referirse a cualquier proteína anexina, o a proteínas anexinas específicas tales como "anexina A1", "anexina A2" y "anexina A5". Las anexinas se caracterizan por su capacidad dependiente de calcio para unir fosfolípidos cargados negativamente (es decir, paredes de membrana). Las anexinas se caracterizan por un andamio de proteínas repetido limitado a un tamaño de 30-50 kDa con una distribución tisular bastante ubicua. La estructura básica de una anexina se compone de dos dominios: una región "núcleo" terminal C conservada estructuralmente y un dominio terminal N divergente. La región central se une a la membrana celular de fosfolípidos de una manera dependiente de Ca^{2+} . La región terminal N se une a proteínas citoplasmáticas. Las anexinas son importantes en diversos procedimientos celulares y fisiológicos y proporcionan un andamio de membrana. El núcleo del terminal C está compuesto por cuatro

repeticiones de anexina. La anexina se caracteriza por su naturaleza flexible de repetición que influye en sus capacidades intrínsecas de detección de membrana. Por ejemplo, la afinidad hacia biomembranas específicas puede controlarse mediante el número de repeticiones. Con la detección característica de fosfolípidos, la anexina puede ser útil para detectar/alcanzar uniones intestinales para la administración de fármacos. Otra aplicación potencial para una anexina es alcanzar uniones estrechas intestinales y la región de Zonula Occludens (ZO-1), que se sabe que es particularmente difícil de atravesar para terapias proteicas más grandes, lo que afecta significativamente la absorción de fármacos.

El término "anexina cuasi-nativa" se refiere a una molécula de heteromultímero que tiene una estructura y/o función similar a la anexina completa, y donde dicha molécula de heteromultímero está formada por el conjunto de dos o más polipéptidos monoméricos diseñados en base a la secuencia de la anexina completa. En ciertas realizaciones, los polipéptidos de interés son "segmentos" que se asocian preferentemente como pares heteromultiméricos para formar una proteína cuasi-nativa. En algunas realizaciones, la anexina cuasi-nativa tiene el 90 % de la actividad de la anexina completa. En algunas realizaciones, la cuasi-anexina tiene el 75 % de la actividad de la anexina completa. En algunas realizaciones, la cuasi-anexina tiene el 50 % de la actividad de la anexina completa. En algunas realizaciones, la cuasi-anexina tiene el 50-75 % de la actividad de la anexina completa. En algunas realizaciones, la cuasi-anexina tiene el 80 % de la actividad de la anexina completa. En algunas realizaciones, la cuasi-anexina tiene el 90 % de la estructura de la anexina completa según se determina por modelado molecular. En algunas realizaciones, la cuasi-anexina tiene el 80 % de la estructura de la anexina completa según se determina por modelado molecular. En algunas realizaciones, la cuasi-anexina tiene el 70 % de la estructura de la anexina completa según se determina por modelado molecular. En algunas realizaciones, la cuasi-anexina tiene el 50 % de la estructura de la anexina completa según se determina por modelado molecular. En algunas realizaciones, la cuasi-anexina tiene el 50%-75 % de la estructura de la anexina completa según se determina por modelado molecular.

La secuencia de la anexina A2 natural Humana es la siguiente:

SEQ ID NO: 14

GS AVSPYPTFNPSSDVAALHKAIMVKGVD EATHIDILTKRNNAQRQQIKAAYLQET
GKPLDETLKKALTGHLEEVVLALLKTPAQFDADELRAAMKGLGTDEDTLIEILASR
TNKEIRDINRVYREELKRD LAKDITS DTS GDFRNALLSLAKGDRSEDFGVNEDLADS
DARALYEAGERRKGT DVNVFNTILTTRSYPQLRRVFQKYTKYSKHDMNKVLDLEL
KGDIEKCLTAIVKCATSKPAFFAEKLHQAMKGVGTRHKALIRIMVSRSEIDMNDIKA
FYQKMYGISLCQAILDETKGDYEKILVALCGGN

Transferrina:

Las transferrinas son proteínas monoméricas de aproximadamente 76 kDa de peso molecular presente en todos los vertebrados y funcionan como una proteína de unión y transporte de hierro. La transferrina humana recombinante y sus fusiones se están considerando para el tratamiento de diversas enfermedades, incluyendo talasemia, attransferrinemia, degeneración macular relacionada con la edad, diabetes tipo 2, durante el trasplante de células madre y en el tratamiento de enfermedades infecciosas agudas causadas por la bacteria del ántrax. La transferrina es estable en el ambiente gastrointestinal y varios estudios han demostrado que los conjugados de proteína-transferrina intactos pueden administrarse por vía oral y permanecer bioactivos.

El término "cuasi-transferrina" se refiere a una molécula de heteromultímero que tiene una estructura y/o función similar a la transferrina completa, y donde dicha molécula de heteromultímero está formada por el conjunto de dos o más polipéptidos monoméricos diseñados basado en la secuencia de la transferrina completa. En ciertas realizaciones, los polipéptidos de interés son "segmentos" que se asocian preferentemente como pares heteromultiméricos para formar una proteína cuasi-nativa. En algunas realizaciones, la cuasi-transferrina tiene el 90 % de la actividad de la transferrina completa. En algunas realizaciones, la cuasi-transferrina tiene el 75 % de la actividad de la transferrina completa. En una realización, la cuasi-transferrina tiene el 50 % de la actividad de la transferrina completa. En algunas realizaciones, la cuasi-transferrina tiene el 50-75 % de la actividad de la transferrina completa. En una realización, la cuasi-transferrina tiene el 80 % de la actividad de la transferrina completa. En algunas realizaciones, la cuasi-transferrina tiene el 90 % de la estructura de la transferrina completa según se determina por modelado molecular. En algunas realizaciones, la cuasi-transferrina tiene el 80 % de la estructura de la transferrina completa según se determina por

modelado molecular. En algunas realizaciones, la cuasi-transferrina tiene el 70 % de la estructura de la transferrina completa según se determina por modelado molecular. En algunas realizaciones, la cuasi-transferrina tiene el 50 % de la estructura de la transferrina completa según se determina por modelado molecular. En algunas realizaciones, la cuasi-transferrina tiene el 50 %-75 % de la estructura de la transferrina completa según se determina por modelado molecular.

La secuencia de la Transferrina Humana natural es la siguiente:

SEQ ID NO: 19

MRLAVGALLV CAVLGLCLAV PDKTVRWCAV SEHEATKCQS FRDHMKSVIP
SDGPSVACVK KASYLDCIRA IAANEADAVT LDAGLVYDAY LAPNNLKPVV
AEFYGSKEDP QTFYYAVAVV KKDSGFQMNQ LRGKKSCHTG LGRSAGWNIP
IGLLYCDLPE PRKPLEKAVA NFFSGSCAPC ADGTDFPQLC QLCPGCGCST
LNQYFGYSGA FKCLKDGAGD VAFVKHSTIF ENLANKADRQ QYELLCLDNT
RKPVDEYKDC HLAQVPSHTV VARSMGGKED LIWELLNQAQ EHFGKDKSKE
FQLFSSPHGK DLLFKDSAAG FLKVPPRMDA KMYLGYEYVT AIRNLREGTC
PEAPTDECKP VKWCALSHHE RLKCEWSVN SVGKIECVSA ETEDCIAKI
MNGEADAMSL DGGFVYIAGK CGLVPVLAEN YNKSDNCEDT PEAGYFAVAV
VKKSASDLTW DNLKGKKSCH TAVGRTAGWN IPMGLLYNKI NHCRFDEFFS
EGCAPGSKKD SSLCKLCMGS GLNLCEPNNK EGYGYGTGAF RCLVEKGDVA
FVKHQTPVQN TGGKNPDPWA KNLNEKDYL LCLDGTRKPV EYANCHLAR
APNHAVVTRK DKEACVHKIL RQQQHLFGSN VTDCSGNFCL FRSETKDLLF
RDDTVCLAKL HDRNTYEKYL GEEYVKAVERN LKRCSTSSLL EACTFRRP

10

Molécula de carga:

Un heteromultímero descrito en esta invención comprende polipéptidos que comprenden al menos una molécula de carga, y al menos un polipéptido transportador, dicha molécula de carga y polipéptido transportador asociados entre sí, por medios inclusivos de, pero no restringidos a fusión genética o conjugación química. En algunas realizaciones, el polipéptido de carga se fusiona con el extremo N o C del polipéptido transportador. En algunas realizaciones, los polipéptidos de carga se fusionan con el extremo N o C del polipéptido transportador. En alguna realización, el polipéptido de carga se conjuga a la posición Cisteína 37 del polipéptido transportador derivado por segmentación de albúmina humana. En ciertas realizaciones, al menos una molécula de carga es un agente terapéutico. En ciertos agentes, la molécula de carga es una toxina. En ciertas realizaciones, la molécula de carga es un antígeno, o análogos del mismo. En una realización, la molécula de carga es un producto natural, análogo o profármaco del mismo. En ciertas realizaciones, la molécula de carga es un agente terapéutico como una citotoxina, por ejemplo, un agente citostático o citocida, un agente terapéutico o un ion metálico radiactivo, por ejemplo, emisores alfa como, por ejemplo, ²¹³Bi. Una citotoxina o agente citotóxico incluye cualquier agente que sea perjudicial para las células. Ejemplos incluyen paclitaxol, citocalasina B, gramicidina D, bromuro de etidio, emetina, mitomicina, etopósido, tenoposido, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorubicina, daunorrubicina, dihidroxi antracina diona, mitoxantrona, actinomicina D, 1-dehidrotestosterona, glucocorticoides, procaina, tetracaina, lidocaina, propranolol y puromicina y análogos u homólogos de los mismos. Agentes terapéuticos incluyen, entre otros, antimetabolitos (p. ej., metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, 5-fluorouracilo decarbazina), agentes alquilantes (p. ej., mecloretamina, tioepa clorambucilo, melfalán, carmustina (BSNU) y lomustina (CCNU), ciclofosfamida, busulfano, dibromomanitol, estreptozotocina, mitomicina C y cis-diclorodiamina platino (II) (DDP) cisplatino), antraciclinas (p. ej., daunorrubicina (anteriormente daunomicina) y doxorubicina), antibióticos (p. ej., dactinomicina (anteriormente actinomicina), bleomicina, mitramicina y antramicina (AMC), y agentes antimetabólicos (p. ej., vincristina y vinblastina).

35 En cierta realización, la molécula de carga es una biomolécula. En una realización, la molécula de carga es un ácido

nucleico natural o sintético. En algunas realizaciones, al menos una molécula de carga es uno o más de un oligómero de ADN, APN y/o ARN. En ciertas realizaciones, un heteromultímero descrito en esta invención comprende proteínas monoméricas que comprenden al menos un polipéptido de carga, o fragmentos o variantes del mismo, y al menos un polipéptido transportador, dicho polipéptido de carga y polipéptido transportador asociados entre sí, por medios que incluyen, pero no se restringen a, fusión genética o conjugación química.

Como se usa en esta invención, "polipéptido de carga" se refiere a proteínas, polipéptidos, anticuerpos, péptidos o fragmentos o variantes de los mismos, que tienen una o más actividades terapéuticas y/o biológicas. Los polipéptidos de carga abarcados por la invención incluyen, pero no se limitan a, proteínas, polipéptidos, péptidos, anticuerpos, sustratos o ligandos para proteínas diana terapéuticamente relevantes y productos biológicos. (Los términos péptidos, proteínas y polipéptidos se usan indistintamente en esta invención). Específicamente, el término "polipéptido de carga" abarca anticuerpos y fragmentos y variantes de los mismos. Por lo tanto, un heteromultímero descrito en esta invención puede contener al menos un fragmento o variante de un polipéptido de carga, y/o al menos un fragmento o variante de un anticuerpo. Además, en ciertas realizaciones, el término "polipéptido de carga" se refiere al correlato endógeno o natural de un polipéptido de carga.

Como ejemplo no limitativo, una "biomolécula de carga" es una biomolécula tal como, pero no restringida a, una proteína, ADN o ARN que es útil para tratar, impedir o mejorar una enfermedad, afección o trastorno. Como ejemplo no limitativo, un "polipéptido de carga" puede ser uno que se une específicamente a un tipo de célula particular (normal (por ejemplo, linfocitos) o anormal, (por ejemplo, células cancerosas)) y, por lo tanto, puede usarse para alcanzar un compuesto (fármaco, o agente citotóxico) a ese tipo de célula específicamente.

En otro ejemplo no limitante, una "molécula de carga" es una molécula que tiene una actividad biológica, y en particular, una actividad biológica que es útil para tratar, impedir o mejorar una enfermedad. Una lista no inclusiva de actividades biológicas que puede ser poseídas por una molécula de carga, por ejemplo, un polipéptido de carga incluye mejorar la respuesta inmune, promover la angiogénesis, inhibir la angiogénesis, regular las funciones hematopoyéticas, estimular el crecimiento nervioso, mejorar una respuesta inmune, inhibir una respuesta inmune, o una o más de las actividades biológicas descritas en esta invención.

Los polipéptidos de carga correspondientes a una porción de polipéptido de carga de una proteína de heteromultímero descrita en esta invención, como la superficie celular y las proteínas secretoras, a menudo se modifican, mediante la unión de uno o más grupos oligosacáridos. La modificación, denominada glucosilación, puede afectar drásticamente las propiedades físicas de las proteínas y puede ser importante en la estabilidad, secreción y localización de proteínas. La glucosilación se produce en ubicaciones específicas a lo largo de la cadena principal del polipéptido. Por lo general, existen dos tipos principales de glucosilación: la glucosilación caracterizada por oligosacáridos unidos a O, que están unidos a residuos de serina o treonina; y glucosilación caracterizada por oligosacáridos unidos a N, que están unidos a residuos de asparagina en una secuencia Asn-X-Ser/Thr, donde X puede ser cualquier aminoácido excepto prolina. El ácido N-acetilneurámico (también conocido como ácido siálico) suele ser el residuo terminal de los oligosacáridos unidos a N y unidos a B. Variables como la estructura de la proteína y el tipo celular influyen en el número y la naturaleza de los conjuntos de carbohidratos dentro de las cadenas en diferentes sitios de glucosilación. Isómeros de glucosilación también son comunes en el mismo sitio dentro de un tipo celular dado.

La Tabla 2 proporciona una lista no exhaustiva de polipéptidos de carga que corresponden a una porción de polipéptido de carga de un heteromultímero descrito en esta invención. La columna "Polipéptido de carga" revela moléculas de polipéptido de carga seguidas de paréntesis que contienen nombres científicos y de marca que comprenden, o consisten de forma alternativa, esa molécula de polipéptido de carga o un fragmento o variante de la misma. En una realización, la molécula de carga es una molécula que se une a una proteína descrita en la columna "Polipéptido de carga", o en Zhu y col. (Nucleic Acids Res. 38 (1), D787-D791 (2009)); Wishart y col. (Nucleic Acids Res 36, D901-D906 (2008)); Ahmed y col. (Nucleic Acids Res 39, D960-D967 (2011)), o una proteína que pertenece a la clase de moléculas diana terapéuticas.

"Polipéptido de carga" como se usa en esta invención puede referirse a una molécula de polipéptido de carga individual (como se define por la secuencia de aminoácidos obtenible de los números de acceso CAS y Genbank), o al grupo completo del polipéptido de carga asociado con una molécula de polipéptido de carga dada descrita en esta columna, o un polipéptido de carga que se une a una molécula de polipéptido descrita en esta columna.

Tabla 2: Lista no exhaustiva de polipéptidos de carga que corresponden a una porción de polipéptido de carga de un heteromultímero

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
EPO (Eritropoyetina; Epoetina alfa; Epoetina beta; Eritropoyetina activada por genes; Darbepoetin-alfa; NESP; Epogen; Procrit; Eprex; Erypo; Espo; Epoimmun; EPOGIN; NEORECORMON; HEMOLINK; Dynepo; ARANESP)	Estimula la diferenciación celular de las células madre de la médula ósea en una etapa temprana de la eritropoyesis; acelera la proliferación y maduración de células que se diferencian terminalmente en eritrocitos; y modula el nivel de eritrocitos circulantes.	Ensayo de proliferación celular utilizando una línea celular eritroleucémica TF-1. (Kitamura y col. 1989 J.Cell. Physiol. 140: 323).	Anemia; Anemia en la enfermedad renal; Anemia en pacientes oncológicos; Trastornos hemorrágicos; Insuficiencia renal crónica; Insuficiencia renal crónica en pacientes prediálisis; Enfermedad renal; Enfermedad renal terminal; Enfermedad renal terminal en pacientes en diálisis; Quimioterapia; Quimioterapia en pacientes con cáncer; Anemia en pacientes con VIH tratados con zidovudina; Anemia en pacientes tratados con zidovudina; Anemia en pacientes con VIH; Anemia en lactantes prematuros; Pacientes quirúrgicos (antes y/o después de la cirugía); Pacientes quirúrgicos (antes y/o después de la cirugía) que son anémicos; Pacientes quirúrgicos (antes y/o después de la cirugía) que se someten a cirugía electiva; Pacientes quirúrgicos (antes y/o después de la cirugía) que se someten a cirugía electiva, no cardíaca; Pacientes quirúrgicos (antes y/o después de la cirugía) que se someten a cirugía electiva, no cardíaca, no vascular; Pacientes quirúrgicos (antes y/o después de la cirugía) que se someten a cirugía electiva, no vascular; Pacientes quirúrgicos (antes y/o después de la cirugía) que se someten a cirugía cardíaca y/o vascular; Anemia aplásica; Anemia refractaria; Anemia en enfermedad inflamatoria intestinal;

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			Anemia refractaria en enfermedad inflamatoria intestinal; Evitación de transfusión; Evitación de transfusión para pacientes quirúrgicos; Evitación de transfusión para pacientes quirúrgicos electivos; Evitación de transfusión para pacientes quirúrgicos ortopédicos electivos; Pacientes que desean aumentar los glóbulos rojos.
G-CSF (Factor estimulante de colonias de granulocitos; Granulocina; KRN 8601; Filgrastim; Lenograstim; Meograstim; Nartograstim; Neupogen; NOPIA; Gran; GRANOCYTE; Granulocina; Neutrogina; Neu-up; Neutromax)	Estimula la proliferación y diferenciación de las células progenitoras para granulocitos y monocitos-macrófagos.	Proliferación de células NFS-60 murinas (Weinstein y col, Proc Natl Acad Sci USA 1986; 83, pp5010-4)	Quimioprotección; Adyuvante a la quimioterapia; Trastornos inflamatorios; Cáncer; Leucemia; Leucemia mielocítica; Neutropenia, Neutropenias primarias (por ejemplo, síndrome de Kostmann); Neutropenia secundaria; Prevención de neutropenia; Prevención y tratamiento de neutropenia en pacientes infectados por VIH; Prevención y tratamiento de neutropenia asociada con quimioterapia; Infecciones asociadas con neutropenias; Mieloplasia; Trastornos autoinmunes; Psoriasis; Movilización de células progenitoras hematopoyéticas; Curación de heridas; Enfermedad autoinmune; Trasplantes; Trasplantes de médula ósea; Leucemia mielogénica aguda; Linfoma, linfoma no Hodgkin; Leucemia linfoblástica aguda; Enfermedad de Hodgkin; Recuperación mieloide acelerada; Enfermedad por almacenamiento de glucógeno.
GM-CSF (Factor	Regula la diferenciación de	Ensayo estimulante de	Trastornos de la médula

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos; rhuGM-CSF; BI 61012; Prokine; Molgramostim; Sargramostim; fusión GM-CSF/IL 3; Milodistim; Leucotropina; PROKINE; LEUKOMAX; Interberina; Leucina; Leucina líquida; Pixicina)	células hematopoyéticas, la expresión, el crecimiento y la función génica.	colonias: Testa, N. G., y col., "Assays for hematopoietic growth factors." Balkwill FR (edt) Cytokines, A practical Approach, pp 229-44; IRL Press Oxford 1991.	ósea; Trasplante de médula ósea; Quimioprotección; Hepatitis C; Infecciones por VIH; Cáncer; Cáncer de pulmón; Melanoma; Melanoma maligno; Complejo de Mycobacterium avium; Micosis; Leucemia; Leucemia mieloide; Infecciones; Infecciones neonatales; Neutropenia; Mucositis; Mucositis oral; Cáncer de próstata; Movilización de células madre; Adyuvante de vacuna; Úlceras (como úlceras diabéticas, de estasis venosa o de presión); Prevención de neutropenia; Leucemia mielógena aguda; Movilización de células progenitoras hematopoyéticas; Linfoma; Linfoma no Hodgkin; Leucemia linfoblástica aguda; Enfermedad de Hodgkin; Recuperación mieloide acelerada; Rechazo de trasplante; Rechazo de xenotrasplante.
Hormona de crecimiento humano (Pegvisamont; Somatrem; Somatropina; TROVERT; PROTROPIN; BIO-TROPIN; HUMATROPE; NUTROPIN; NUTROPIN AQ; NUTROPHIN; NORDITROPIN; GENOTROPIN; SAIZEN; SEROSTIM)	Se une a dos moléculas de GHR e induce la transducción de señales a través de la dimerización del receptor	Ensayo de proliferación Ba/F3-hGHR, un nuevo bioensayo específico para la hormona de crecimiento humano sérica. J Clin Endocrinol Metab 2000 Nov; 85(11): 4274-9 Plasma growth hormone (GH) immunoassay and tibial bioassay, Appl Physiol 2000 Dic; 89(6): 2174-8 Growth hormone (hGH) receptor mediated cell mediated proliferation, Growth Horm IGF Res 2000 Oct; 10(5): 248-55 International standard for growth hormone, Horm Res 1999; 51 Suppl 1: 7-12	Acromegalia; Insuficiencia del crecimiento; Sustitución de la hormona del crecimiento; Deficiencia de la hormona del crecimiento; Deficiencia de la hormona del crecimiento pediátrica; Deficiencia de la hormona del crecimiento en adultos; Deficiencia de la hormona del crecimiento idiopática; Retraso del crecimiento; Síndrome de Prader-Willi; Síndrome de Prader-Willi en niños de 2 años o más; Deficiencias del crecimiento; Insuficiencia del crecimiento asociada

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			con insuficiencia renal crónica; Osteoporosis; Osteoporosis posmenopáusica; Osteopenia, Osteoclastogénesis; quemaduras; Caquexia; Caquexia del cáncer; Enanismo; Trastornos metabólicos; Obesidad; Insuficiencia renal; Síndrome de Turner; Fibromialgia; Tratamiento de fracturas; Fragilidad, Emaciación por SIDA; Emaciación muscular; Baja estatura; Agentes de diagnóstico; Infertilidad femenina; lipodistrofia.
Insulina (insulina humana; insulina aspart; insulina glargina; insulina lispro; Lys-B28 Pro- B29; lyspro; LY 275585; diarginilinsulina; Des-B26- B30-insulina-B25-amida; insulina detemir; LABI; NOVOLIN; NOVORAPID; HUMULIN; NOVOMIX 30; VELOSULIN; NOVOLOG; LANTUS; ILETIN; HUMALOG; MACRULIN; EXUBRA; INSUMAN; ORALIN; ORALGEN; HUMAHALIN; HUMAHALIN)	Estimula la absorción de glucosa y promueve la glucogenesia y la lipogénesis.	La actividad de la insulina puede analizarse in vitro utilizando un ensayo de captación de glucosa [3-H]. (J Biol Chem 1999 Oct 22; 274(43): 30864-30873).	Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X.
Interferón alfa (Interferón alfa-2b; recombinante; Interferón alfa-n1; Interferón alfa-n3; Peginterferón alfa-2b; Ribavirina e interferón alfa-2b; Interferón alfacon-1; interferón consenso; YM 643; CIFN; interferón alfa consenso; interferón de consenso de metionilo	Conforma una gama de respuestas celulares que incluyen actividades antivirales, antiproliferativas, antitumorales e inmunomoduladoras; estimula la producción de dos enzimas: una proteína quinasa y una	Ensayo antiviral: Rubinstein S, Familletti PC, Pestka S. (1981) Convenient assay for interferons. J. Virol. 37(2): 755-8; Ensayo antiproliferación: Gao Y, y col (1999) Sensitivity of an epstein-barr virus- positive tumor line, Daudi, to alpha interferon correlates with	Infecciones virales; Infecciones por VIH; Hepatitis; Hepatitis crónica; Hepatitis B; Hepatitis crónica B; Hepatitis C; Hepatitis crónica C; Hepatitis D; Hepatitis crónica D; Virus del papiloma humano; Infección por virus del

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
recombinante; interferón de consenso recombinante; CGP 35269; RO 253036; RO 258310; INTRÓN A; PEG-INTRÓN; OIF; OMNIFERON; PEG- OMNIFERON; VELDONA; PEG- REBETRON; ROFERON A; WELLFERON; ALFERONN/LDO; REBETRON; ALTEMOL; VIRAFERON PEG; PEGASYS; VIRAFERON; VIRAFON; AMPLIGEN; INFERGEN; INFAREX; ORAGEN)	oligoadenilato sintetasa.	expression of a GC-rich viral transcript. Mol Cell Biol. 19(11): 7305- 13.	herpes simple; Condylomata Acuminata externos; VIH; Infección por VIH; Oncología; Cáncer; Tumores sólidos; Melanoma; Melanoma maligno; Cáncer renal (por ejemplo, Carcinoma de células renales); Cáncer de pulmón (por ejemplo, Cáncer de pulmón no microcítico o cáncer de pulmón microcítico) Cáncer de colon; Cáncer de mama; Cáncer de hígado; Cáncer de próstata; Cáncer de vejiga; Cáncer gástrico; Sarcoma; Sarcoma de Kaposi relacionado con el SIDA; Linfoma; Linfoma de células T; Linfoma de células T cutáneo; Linfoma no Hodgkin; Cáncer cerebral; Glioma; Glioblastoma multiforme; Displasia cervical; Leucemia; Preleucemia; Trastornos de la médula ósea; Trastornos óseos; Leucemia de células pilosas; Leucemia mielógena crónica; Malignidades hematológicas; Trastornos hematológicos; Mieloma múltiple; Infecciones bacterianas; Quimioprotección; Trombocitopenia; Esclerosis múltiple; Fibrosis pulmonar; Degeneración macular relacionada con la edad; Degeneración macular; Enfermedad de Crohn; Trastornos neurológicos; Artritis; Artritis reumatoide; Colitis ulcerosa; Osteoporosis; Osteopenia, Osteoclastogénesis; Fibromialgia; Síndrome de Sjogren; Síndrome de

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			fatiga crónica; Fiebre; Fiebre hemorrágica; Fiebres hemorrágicas virales; Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; trastornos metabólicos; trastornos inmunológicos; obesidad; trastornos vasculares; supresión del peso corporal; supresión del apetito; síndrome X.
Calcitonina (Salmón Calcitonina (Salcatonina); Calcitonina híbrida humano-salmón; Forcaltonina; Fortical; Calcitonina; Calcitonina Almirall; Calcitonina Hubber; Calcimar; Calsynar; Calogen; Miacalcic; Miacalcin; SB205614; Macritonina; Cibacalcin; Cibacalcina; Cibacalcine; Salmocalcina; PowderJect Calcitonin) (CAS-21215- 62-3)	Regula los niveles de calcio y fosfato en suero; causa una reducción del calcio sérico, un efecto opuesto al de la hormona paratiroidea humana.	Bioensayo de rata hipocalcémica, ensayo de reabsorción ósea y el ensayo de foso (pit assay), ensayo de unión al receptor CT, ensayo de estimulación CAMP: J Bone Miner Res 1999 Ago; 14(8): 1425-31	Trastornos óseos; Prevención de fracturas; Hipercalcemia; Hipercalcemia maligna; Osteoporosis; Enfermedad de Paget; Osteopenia, Osteoclastogénesis; osteólisis; osteomielitis; osteonecrosis; pérdida ósea periodontal; osteoartritis; artritis reumatoide; osteopetrosis; enfermedad ósea periodontal, lítica o metastásica; inhibición de la diferenciación de osteoclastos; trastornos óseos; cura y regeneración ósea.

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
Interferón beta (Interferón beta-1a; Interferón beta 1b; Interferón beta-serina; SH 579; ZK 157046; BCDF; beta-2 IF; Interferón beta-2; rhIL-6; SJ0031;DL 8234; FERÓN; IFNbeta; BETASERON; AVONEX; REBIF; BETAIFERON; SIGOSIX)	Modula la expresión del antígeno MHC, la actividad de células NK y la producción de IFNg y la producción de IL 12 en monocitos.	Ensayo antiviral: Rubinstein S, Familletti PC, Pestka S. (1981) Convenient assay for interferons. J. Virol. 37(2): 755-8; Ensayo antiproliferación: Gao Y, y col (1999) Sensitivity of an epstein-barr virus- positive tumor line, Daudi, to alpha interferon correlates with expression of a GC-rich viral transcript. Mol Cell Biol. 19(11): 7305- 13.	Esclerosis múltiple; Oncología; Cáncer; Tumores sólidos; Melanoma; Melanoma maligno; Cáncer renal (por ejemplo, carcinoma de células renales); Cáncer de pulmón (por ejemplo, Cáncer de pulmón no microcítico o cáncer de pulmón microcítico) Cáncer de colon; Cáncer de mama; Cáncer de hígado; Cáncer de próstata; Cáncer de vejiga; Cáncer gástrico; Sarcoma; Sarcoma de Kaposi relacionado con el SIDA; Linfoma; Linfoma de células T; Linfoma de células T cutáneo; Linfoma no Hodgkin; Cáncer cerebral; Glioma; Glioblastoma multiforme; Displasia cervical; Leucemia; Preleucemia; Trastornos de la médula ósea; Trastornos óseos; Leucemia de células pilosas; Leucemia mielógena crónica; Malignidades hematológicas; Trastornos hematológicos; Mieloma múltiple; Infecciones bacterianas; Quimioprotección; Trombocitopenia; Infecciones virales; Infecciones por VIH; Hepatitis; Hepatitis crónica; Hepatitis B; Hepatitis crónica B; Hepatitis C; Hepatitis crónica C; Hepatitis D; Hepatitis crónica D; Virus del papiloma humano; Infección por el virus del herpes simple; Condylomata Acuminata externos; VIH; Infección por VIH; Fibrosis pulmonar; Degeneración macular relacionada con la edad; Degeneración

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			macular; Enfermedad de Crohn; Trastornos neurológicos; Artritis; Artritis reumatoide; Colitis ulcerosa; Osteoporosis, Osteopenia, Osteoclastogénesis; Fibromialgia; Síndrome de Sjogren; Síndrome de fatiga crónica; Fiebre; Fiebre hemorrágica; Fiebres hemorrágicas virales; Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunológicos; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X.

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
Factor liberador de la hormona del crecimiento; Hormona liberadora de la hormona del crecimiento (acetato de sermorelina; Pralmorelina; Somatorelina; Somatoliberina; Geref; Gerel; Groliberina)	Actúa sobre la hipófisis anterior para estimular la producción y secreción de la hormona del crecimiento y ejercer un efecto trófico sobre la glándula.	Se sabe que los péptidos liberadores de la hormona del crecimiento (GHRP) liberan hormona del crecimiento (GH) in vivo e in vitro mediante una acción directa sobre los receptores en células pituitarias anteriores. La actividad biológica se puede medir en líneas celulares que expresan el receptor del factor liberador de la hormona del crecimiento (Mol Endocrinol 1992 Oct; 6(10): 1734-44, Molecular Endocrinology, Vol 7, 77-84).	Acromegalia; Insuficiencia del crecimiento; Sustitución de la hormona del crecimiento; Deficiencia de la hormona del crecimiento; Deficiencia de la hormona del crecimiento pediátrica; Deficiencia de la hormona del crecimiento en adultos; Deficiencia de la hormona del crecimiento idiopática; Retraso del crecimiento; Síndrome de Prader-Willi; Síndrome de Prader-Willi en niños de 2 años o más; Deficiencias del crecimiento; Insuficiencia del crecimiento asociada con insuficiencia renal crónica; Osteoporosis; Osteopenia, Osteoclastogénesis; Osoporosis posmenopáusica; quemaduras; Caquexia; Caquexia del cáncer; Enanismo; Trastornos metabólicos; Obesidad; Insuficiencia renal; Síndrome de Turner; Fibromialgia; Tratamiento de fracturas; Fragilidad, Emaciación por SIDA; Emaciación muscular; Baja estatura; Agentes de diagnóstico; Infertilidad femenina; lipodistrofia.

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
IL-2 (Aldesleucina; toxina de fusión de interleucina-2; factor de crecimiento de células T; PROLEUCINA; IMMUNACE; CELEUK; ONCOLIPIN 2; MACROLIN)	Promueve el crecimiento de células B y T y aumenta la actividad de destrucción de células NK y células CTL.	Ensayo de proliferación de células T "Biological activity of recombinant human interleukin-2 produced in Escherichia coli." Science 223: 1412-1415, 1984. células asesinas naturales (NK) y ensayo de citotoxicidad CTL "Control of homeostasis of CD 8+ memory T cells by opposing cytokines". Science 288: 675-678, 2000; Proliferación de CTLL-2: Gillis y col (1978) J. Immunol. 120, 2027	Cáncer; tumores sólidos; carcinoma de células renales metastásico; melanoma metastásico; melanoma maligno; melanoma; carcinoma de células renales; cáncer renal; cáncer de pulmón (por ejemplo, Cáncer de pulmón no microcítico o cáncer de pulmón microcítico); Cáncer de colon; Cáncer de mama; Cáncer de hígado; Leucemia; Preleucemia; Malignidades hematológicas; Trastornos hematológicos; Leucemia mieloide aguda; Melanoma; Melanoma maligno; Linfoma no Hodgkin; Cáncer de ovario; Cáncer de próstata; Cáncer cerebral; Glioma; Glioblastoma multiforme; Hepatitis; Hepatitis C; Linfoma; Infección por VIH (SIDA); Trastornos inflamatorios intestinales; Sarcoma de Kaposi; Esclerosis múltiple; Artritis; Artritis reumatoide; Rechazo de trasplante; Diabetes; Diabetes mellitus tipo 1; Diabetes tipo 2.
Hormona paratiroidea; paratiroidina (PTH; Ostabolina; ALX1-11; hPTH 1-34; LY 333334; MN 10T; hormona paratiroidea (1-31); FORTEO; PARATHAR)	Actúa en conjunción con calcitonina para controlar el metabolismo de calcio y fosfato; eleva el nivel de calcio en sangre; estimula la actividad de los osteocitos; mejora la absorción de Ca ²⁺ /Pi del intestino delgado en sangre; promueve la reabsorción de Ca ²⁺ e inhibe Pi por túbulos renales.	Estimulación de adenilil ciclasa en células de osteosarcoma de rata, modelo de osteoporosis en rata ovariectomizada: IUBMB Life 2000 Feb; 49(2): 131-5	Trastornos óseos; Prevención de fracturas; Hipercalcemia; Hipercalcemia maligna; Osteoporosis; Enfermedad de Paget; Osteopenia, Osteoclastogénesis; osteólisis; osteomielitis; osteonecrosis; pérdida ósea periodontal; osteoartritis; artritis reumatoide; osteopetrosis; enfermedad ósea periodontal, lítica o metastásica; inhibición de la diferenciación de

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			osteoclastos; trastornos óseos; cura y regeneración ósea.
Resistina	Media la resistencia a la insulina en la diabetes tipo II; inhibe la absorción de glucosa estimulada por insulina	La capacidad de la resistina para influir en la diabetes tipo II se puede determinar utilizando ensayos conocidos en la técnica: Pontoglio y col., J Clin Invest 1998 May 15; 101(10): 2215-22.	Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X.
TR6 (DcR3; Receptor Decoy 3; FASTR)	Inhibe la apoptosis mediada por Fas Ligand y AIM-2 (TL5, LIGHT).	La apoptosis celular se puede medir mediante tinción con anexina, tinción con TUNEL, medición de niveles de caspasa. La inhibición del crecimiento celular también se puede medir directamente, por ejemplo, mediante tinción con ALOMAR Blue. Refs del ensayo: ensayo de citotoxicidad en fibrosarcoma humano (Epsevik y Nissen-Meyer, 1986, J. Immunol, procedimientos).	Trastornos apoptóticos inducidos por Fas Ligand o LIGHT: hepatitis; insuficiencia hepática (incluyendo insuficiencia hepática fulminante); enfermedad injerto contra huésped; rechazo del injerto; síndrome mielodisplásico; insuficiencia renal; diabetes mellitus dependiente de insulina; artritis reumatoide; enfermedad inflamatoria intestinal; enfermedad autoinmune; necrólisis epidérmica tóxica; esclerosis múltiple.
DeCAF (D- SLAM; proteína de membrana similar a BCM; BLAME (macrófago activador de linfocitos B expresado))x	Inhibe la proliferación y diferenciación de células B; Antagoniza la actividad de BLyS	La actividad de DeCAF se puede determinar usando ensayos conocidos en la técnica, tales como, por ejemplo, los descritos en los Ejemplos 32-33 de la	Trastornos inmunitarios mediados por células B y/o células T; Inmunodeficiencia (por ejemplo, inmunodeficiencia

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
		Publicación Internacional No. WO01 11046.	variable común, deficiencia selectiva de IgA)
BlyS (estimulador de linfocitos B; neutroquina alfa; TL7; BAFF; TALL- 1; THANK; BlyS radiomarcado)	Promueve la proliferación, diferenciación y supervivencia de células B; Promueve la producción de inmunoglobulina por células B.	La actividad de BlyS se puede determinar usando ensayos conocidos en la técnica, tales como, por ejemplo, el ensayo de proliferación coestimuladora y otros ensayos descritos por Moore y col., 1999, Science, 285(5425): 260-3.	Trastornos inmunitarios mediados por células B y/o células T, particularmente trastornos del sistema inmunitario asociados con bajas cantidades de células B o baja inmunoglobulina sérica; Inmunodeficiencia (por ejemplo, inmunodeficiencia variable común, deficiencia selectiva de IgA). Formas radiomarcadas: linfoma, linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica, mieloma múltiple.
Anticuerpo de cadena simple anti-BlyS (scFv1 116A01, scFv1050BII, scFv1006D08) y otros.	Agonizar o antagonizar la actividad de BlyS.	La actividad agonista o antagonista de BlyS se puede determinar usando ensayos conocidos en la técnica, tales como, por ejemplo, una versión modificada del ensayo de proliferación coestimuladora descrito por Moore y col., 1999, Science, 285(5425): 260-3, en el que BlyS se mezcla o preincuba con el anticuerpo anti-BlyS antes de aplicarse a los linfocitos B respondedores.	Trastornos inmunitarios mediados por células B y/o células T; Trastornos autoinmunes, particularmente enfermedades autoinmunes asociadas con la producción de autoanticuerpos; Artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico; Síndrome de Sjogren, cánceres que expresan Blys como un factor de crecimiento autocrino, por ejemplo, ciertas leucemias linfocíticas crónicas.

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
MPIF-1 (Factor inhibidor del progenitor mieloide; CK beta-8; Mirostipen)	Inhibe las células progenitoras mieloides y activa los monocitos	La actividad de MPIF-1 se puede medir usando el ensayo de mieloprotección y el ensayo de quimiotaxis descritos en la Patente EE. UU. No. 6.001.606.	Quimioprotección; Adyuvante a la quimioterapia; Trastornos inflamatorios; Cáncer; Leucemia; Leucemia mielocítica; Neutropenia, Neutropenias primarias (por ejemplo, síndrome de Kostmann); Neutropenia secundaria; Prevención de neutropenia; Prevención y tratamiento de neutropenia en pacientes infectados por VIH; Prevención y tratamiento de neutropenia asociada con quimioterapia; Infecciones asociadas con neutropenias; Mieloplasia; Trastornos autoinmunes; Psoriasis; Movilización de células progenitoras hematopoyéticas; Curación de heridas; Enfermedad autoinmune; Trasplantes; Trasplantes de médula ósea; Leucemia mielogénica aguda; Linfoma, linfoma no Hodgkin; Leucemia linfoblástica aguda; Enfermedad de Hodgkin; Recuperación mieloide acelerada; Enfermedad por almacenamiento de glucógeno.
KDI (interferón derivado de queratinocitos; precursor de interferón Kappa)	Inhibe la proliferación de la médula ósea; y muestra actividad antiviral.	La actividad de KDI se puede medir usando los ensayos antivirales y de proliferación celular descritos en los Ejemplos 57-63 de la Publicación Internacional No. WO0107608.	Esclerosis múltiple; Hepatitis; Cáncer; Infecciones virales, infecciones por VIH, Leucemia.

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
TNFR2 (p75) (ENBREL)	Se une a TNF α y TNF β); media la proliferación de células T por TNF; reduce signos y daño estructural en pacientes con artritis reumatoide (AR) de moderada a severamente activa.	La proliferación de células T se puede medir usando ensayos conocidos en la técnica. Por ejemplo, "Lymphocytes: a practical approach" editado por: SL Rowland, AJ McMichael - capítulo 6, páginas 138-160 Oxford University Press (2000); y "Current Protocols on CD-ROM" sección 3.12 Proliferation Assays for T-cell Function John Wiley & Sons, Inc. (1999).	Enfermedad autoinmune; Artritis reumatoide; Artritis psoriásica; Enfermedad de Still; Espondilitis anquilosante; Enfermedades cardiovasculares; Vasulitis; Granulomatosis de Wegener; Amiloidosis; Lupus eritematoso sistémico, diabetes mellitus dependiente de insulina; trastornos de inmunodeficiencia; Infección; Inflamación; Enfermedad inflamatoria intestinal; Enfermedad de Crohn; Psoriasis; SIDA; Rechazo de injerto; Enfermedad de injerto contra huésped.
Factor de crecimiento de queratinocitos 2 (Repifermina; KGF-2; Factor de crecimiento de fibroblastos - 10; FGF-10)	Estimula el crecimiento de células epiteliales.	La actividad de KGF-2 se puede medir usando los ensayos de curación de heridas y ensayos de proliferación celular epitelial descritos en la Patente EE. UU. N.º 6.077.692.	Estimular la proliferación de células epiteliales; Estimular queratinocitos basales; Curación de heridas; Estimular la producción de folículos pilosos; Curación de heridas dérmicas. Curación de heridas; Heridas del tejido ocular, Heridas del tejido dental, Heridas de la cavidad bucal, Úlceras diabéticas, Úlceras dérmicas, Úlceras cubitus, Úlceras arteriales, Úlceras por estasis venosa, Quemaduras resultantes de exposición al calor o productos químicos u otras afecciones anormales de curación de heridas como uremia, desnutrición, deficiencia de vitaminas o complicaciones asociadas con el tratamiento sistémico con esteroides, radioterapia o fármacos antineoplásicos o antimetabolitos;

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			promover el restablecimiento dérmico posterior a la pérdida dérmica; aumentar la adherencia de los injertos cutáneos a un lecho de herida; estimular la re-epitelización del lecho de la herida; promover el fortalecimiento de la piel; Mejorar la apariencia de la piel envejecida; Proliferar hepatocitos, células de los pulmones, mamas, páncreas, estómago, vejiga, intestino delgado, intestino grueso; sebocitos, folículos pilosos, neumocitos tipo II, células del cáliz productoras de mucina u otras células epiteliales, células endoteliales, queratinocitos o queratinocitos basales (y sus progenitores) contenidos dentro de la piel, pulmón, hígado, vejiga, ojos, glándulas salivales o tracto gastrointestinal; Reducir los efectos secundarios de la toxicidad intestinal que resultan de la radiación, tratamientos de quimioterapia o infecciones virales; células citoprotectoras, especialmente de la mucosa del intestino delgado o vejiga; mucositis (úlceras bucales); regeneración de la piel; defectos cutáneos de espesor total y/o parcial, incluidas las quemaduras (por ejemplo, Repoblación de folículos pilosos, glándulas sudoríparas y glándulas sebáceas); Psoriasis; Epidermólisis bullosa; Ampollas; Úlceras gástricas y/o duodenales; Reducción

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			de cicatrices; Enfermedades inflamatorias intestinales; Enfermedad de Crohn; Colitis ulcerosa; Toxicidad intestinal; Daño pulmonar; Reparación de alvéolos y/o epitelio bronquiolar; Daño pulmonar agudo o crónico; Enfisema, SDRA; Lesiones por inhalación; Enfermedades de membrana hialina; Síndrome de dificultad respiratoria infantil; Displasia broncopulmonar en bebés prematuros; Insuficiencia hepática fulminante; Cirrosis, daño hepático causado por hepatitis viral y/o sustancias tóxicas; Diabetes mellitus; Inflamación.
TR2 (y TR2svl, TR2SV2; TNFRSF14; HVEM; Mediador de entrada del virus del herpes; ATAR)	Inhibe la proliferación de células B y media e inhibe la infección por el virus del herpes simple (VHS).	Ensayo de proliferación de células B de coestimulación y ensayo de producción de Ig (Moore y col., 1999, Science, 285(5425): 260-3.). Ensayo de infecciosidad HSV-1 y HSV-2: Publicación Internacional No. WO 97/	Herpes; trastornos inmunitarios; enfermedad autoinmune; enfermedad injerto contra huésped; rechazo del injerto; inmunodeficiencia variable; síndromes de inmunodeficiencia; cáncer.
Quimiocina derivada de macrófagos, MDC (Ckbeta-13)	Quimiotáctico para células dendríticas derivadas de monocitos y células asesinas naturales activadas por IL-2.	04658 Las actividades de quimiocina se pueden determinar utilizando ensayos conocidos en la técnica: Methods in Molecular Biology, 2000, vol. 138: Protocolos de quimiocina. Editado por: A. E. I. Proudfoot, T. N. C. Wells, y C. A. Power. © Humana Press Inc., Totowa, NJ	Enfermedades inflamatorias; curación de heridas; angiogénesis; infección por SIDA.
HAGDG59 (retina deshidrogenasa de cadena corta)	Activa la liberación de MIP1a en células dendríticas.	Ensayos de células dendríticas se conocen bien en la técnica. Por ejemplo, J. Immunol. 158: 2919-2925 (1997); J. Leukoc. Biol. 65: 822-828 (1999).	Trastornos inmunitarios; cáncer; infección viral; inflamación; sepsis; artritis; asma.

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
GnRH (hormona liberadora de gonadotropina)	Promueve la liberación de hormona estimulante del folículo y hormona luteinizante de la hipófisis anterior.	Se sabe que la GnRH causa la liberación de hormona foliculoestimulante (FSH) y/o hormona luteinizante (LH) in vivo mediante una acción directa sobre los receptores en gonadotrópicos hipofisarios anteriores. La actividad de la GnRH se puede determinar midiendo los niveles de FSH en el medio de gonadotrópicos cultivados antes y después de la suplementación con GnRH. Por ejemplo, Baker y col. Biol Reprod2000 Sep; 63(3): 865-71.	Infertilidad; síndrome de Kallmann u otras formas de hipergonadismo hipergonadotrópico (incapacidad para atravesar la pubertad de forma natural).
Teprotida	Inhibe la enzima convertidora de angiotensina (ECA).	La inhibición de ECA se puede determinar usando ensayos conocidos en la técnica. Por ejemplo, Anzenbacherova y col., J.Pharma Biomed Anal 2001 Mar; 24(5-6): 1151-6.	Hipertensión; insuficiencia cardíaca congestiva.
Quimiocina humana HCC-1 (ckBeta-1; HWFBD)	Involucrado en inflamación, alergia, rechazo tisular, infección viral y biología tumoral; mejora la proliferación de células progenitoras mieloides CD34+.	Las actividades de la quimiocina se pueden determinar utilizando ensayos conocidos en la técnica: Methods in Molecular Biology, 2000, vol. 138: Protocolos de quimiocina. Editado por: A. E. I. Proudfoot, T. N. C. Wells, y C. A. Power. © Humana Press Inc., Totowa, NJ	Trastornos autoinmunes; Inmunidad; Trastornos vasculares e inflamatorios; VIH; SIDA; enfermedades infecciosas.
Inhibidor de ACE2 (DX512)	Inhibe la producción de angiotensina II que induce la producción de aldosterona, vasoconstricción del músculo liso arteriolar y proliferación de fibroblastos cardíacos, induce angiogénesis; una enzima que convierte la angiotensina I en angiotensina 1-9; también escinde des-Arg, bradicinina y neurotensina.	La inhibición de la angiotensina se puede determinar usando ensayos conocidos en la técnica. Por ejemplo, in vitro usando un ensayo de proliferación con fibroblastos cardíacos de rata como se describe en Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1999 May; 359(5): 394-9.	Tratamiento para niveles elevados de angiotensina II y/o aldosterona, que pueden conducir a vasoconstricción, alteración del gasto cardíaco y/o hipertensión; Enfermedad cardiovascular; Insuficiencia cardíaca; Diabetes; Diabetes tipo II; Proteinuria; Trastornos renales, insuficiencia cardíaca congestiva.
TRI (OCIF; factor inhibidor de la osteoclastogénesis; osteoprotegerina, OPG; precursor 11B del miembro	Inhibe la osteoclastogénesis y la reabsorción ósea e induce la proliferación de	Ensayo de cocultivo para osteoclastogénesis, ensayo de reabsorción ósea usando sistema de cultivo de órganos	Osteoporosis; enfermedad de Paget; osteopenia; osteólisis; osteomielitis;

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral;)	fibroblastos.	de hueso largo fetal, ensayo de reabsorción de dentina y ensayos de proliferación de fibroblastos se describen cada uno en Kwon y col., FASEB J. 12: 845-854 (1998).	osteonecrosis; pérdida ósea periodontal; osteoartritis; artritis reumatoide; osteopetrosis; enfermedad ósea periodontal, lítica o metastásica; inhibición de la diferenciación de osteoclastos; trastornos óseos; curación y regeneración ósea; calcificación de órganos; calcificación vascular.
Quimiocina humana Ckbeta-7	Quimiotáctico para células T (CD3+) activadas y linfocitos (CD14-) no activados y linfocitos T (CD4+) y (CD8+) y células T (CD45RA+)	Las actividades de la quimiocina se pueden determinar utilizando ensayos conocidos en la técnica: Methods in Molecular Biology, 2000, vol. 138: Protocolos de quimiocina. Editado por: A. E. I. Proudfoot, T. N. C. Wells, y C. A. Power. © Humana Press Inc., Totowa, NJ	Cáncer; Curación de heridas; Trastornos inflamatorios; Trastornos inmunorreguladores; Aterosclerosis; Infección parasitaria; Artritis reumatoide; Asma; Trastornos autoinmunes.
CKbeta4 (HGBAN46; HE9DR66)	Atrae y activa leucocitos microbicidas; Atrae células dendríticas inmaduras que expresan CCR6 y células T efectoras/de memoria; quimiotaxis de células B; inhibe la proliferación de progenitores mieloides; quimiotaxis de PBMC.	Las actividades de la quimiocina se pueden determinar utilizando ensayos conocidos en la técnica: Methods in Molecular Biology, 2000, vol. 138: Protocolos de quimiocina. Editado por: A. E. I. Proudfoot, T. N. C. Wells, y C. A. Power. © Humana Press Inc., Totowa, NJ	Cáncer; Tumores sólidos; Infección crónica; Trastornos autoinmunes; Psoriasis; Asma; Alergia; Hematopoyesis; Curación de heridas; Insuficiencia de médula ósea; Silicosis; Sarcoidosis; Síndrome hipereosinófilo; Inflamación pulmonar; Trastornos fibróticos; Aterosclerosis; Enfermedades periodontales; Enfermedades virales; Hepatitis.
Leptina	Controla la obesidad mediante la regulación del apetito, la reducción del peso corporal y la disminución de los niveles de insulina y glucosa.	Modulación in vivo de la ingesta de alimentos, reducción del peso corporal y disminución de los niveles de insulina y glucosa en ratones ob/ob, radioinmunoensayo (RIA) y activación del receptor de leptina en un ensayo basado en células. Protein Expr Purif 1998 Dic; 14(3): 335-42	Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI); una

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X; Enfermedades inmunológicas; Inmunosupresión.
Antagonista del receptor de IL-1 (Anakinra; receptor soluble de interleucina-1; IRAP; KINERET; ANTRIL)	Se une al receptor de IL1 sin activar las células diana; inhibe la unión de IL1-alfa e IL 1-beta; y neutraliza la actividad biológica de IL 1-alfa e IL1-beta.	1) Competencia por la unión de IL-1 a receptores de IL-1 en células YT-NCI o C3H/HeJ (Carter y col., Nature 344: 633-638, 1990); 2) Inhibition of IL-1 - induced endothelial cell-leukocyte adhesion (Carter y col., Nature 344: 633-638, 1990); 3) Ensayos de proliferación en células A3 75-C6, una línea celular de melanoma humano altamente susceptible a la acción antiproliferativa de IL-1 (Murai T y col., J. Biol. Chem. 276: 6797-6806, 2001).	Enfermedad autoinmune; Artritis; Artritis reumatoide; Asma; Diabetes; Diabetes mellitus; EICH; Trastornos inflamatorios intestinales; Enfermedad de Crohn; Inflamación ocular; Psoriasis; Shock séptico; Rechazo de trasplante; Trastornos inflamatorios; Trastornos reumáticos; Osteoporosis; Osteoporosis posmenopáusica; Accidente cerebrovascular.
TREM-1 (receptor de activación expresado en monocitos 1)	Media la activación de neutrófilos y monocitos; Estimula la respuesta inflamatoria mediada por neutrófilos y monocitos; Promueve la secreción de TNF, IL-8 y MCP-1; Induce la degranulación de neutrófilos, la movilización de Ca ²⁺ y la fosforilación de tirosina de la quinasa relacionada con la señal extracelular 1 (ERK1), ERK2 y fosfolipasa C-gamma.	La secreción de citocinas, quimiocinas, degranulación y marcadores de activación de la superficie celular se puede determinar utilizando ensayos descritos en Bouchon y col, J Immunol 2000 May 15; 164(10): 4991- 5.	Inflamación; Sepsis; infección bacteriana; enfermedades autoinmunes; EICH.

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
HCNCA73	Induce la activación de células T - expresión del marcador CD 152; Estimula la liberación de TNF-a y MIP- 1a a partir de células dendríticas inmaduras derivadas de monocitos; Promueve la maduración de células dendríticas.	FMAT se puede utilizar para medir los marcadores de superficie de células T (CD69, CD 152, CD71, HLA-DR) y la producción de citocinas de células T (por ejemplo, producción de IFNg). J. of Biomol. Screen. 4: 193-204 (1999). Otros ensayos de proliferación de células T: "Lymphocytes: a practical approach" editado por: SL Rowland, AJ McMichael - Capítulo 6, páginas 138-160 Oxford University Press (2000); WO 01/21658 Ejemplos 11-14, 16-17 y 33.	Trastornos autoinmunes; Inflamación del tracto gastrointestinal; Cáncer; Cáncer de colon; Alergia; Enfermedad de Crohn.
VEGF-2 (Factor de crecimiento endotelial vascular- 2; VEGF-C)	Promueve la proliferación de células endoteliales.	La actividad de VEGF se puede determinar usando ensayos conocidos en la técnica, tales como los descritos en la publicación internacional No. WO0045835, por ejemplo.	Enfermedad arterial coronaria; Isquemia crítica de las extremidades; Enfermedad vascular; proliferación de células endoteliales, tanto vasculares como linfáticas. Los antagonistas pueden ser útiles como agentes antiangiogénicos; Cáncer.
HCHNF25 (salto del punto de ruptura de translocación)	Activa la liberación de MIPla en células dendríticas.	Ensayos de células dendríticas se conocen bien en la técnica. Por ejemplo, J. Immunol. 158: 2919-2925 (1997); J. Leukoc. Biol. 65: 822-828 (1999).	Trastornos inmunitarios; cáncer.
HLD0U18 (Proteína morfogénica ósea 9 (BMP9); precursor del factor de diferenciación de crecimiento 2 (precursor de GDF-2))	Activa el ensayo de quinasa L6/GSK3.	Los ensayos para la activación de la actividad de la quinasa GSK3 son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, Biol. Chem. 379, (8-9). (1998) 1101-1110.; Biochem J. 1993 Nov 15; 296 (Pt 1): 15-9.	Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X.
Péptido similar a Glucagón 1 (GLP1; insulínotropina)	Estimula la síntesis y liberación de insulina; aumenta la sensibilidad de los tejidos adiposos, musculares y hepáticos hacia la insulina; estimula la absorción de glucosa; ralentiza el proceso digestivo; suprime el apetito; bloquea la secreción de glucagón.	La actividad de GLP1 se puede analizar in vitro usando un ensayo de absorción de [3-H]-glucosa. (J Biol Chem 1999 Oct 22; 274(43): 30864-30873).	Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X.
Exendin-4 (AC-2993)	Estimula la síntesis y liberación de insulina; aumenta la sensibilidad de los tejidos adiposos, musculares y hepáticos hacia la insulina; estimula la absorción de glucosa; ralentiza el proceso digestivo; suprime el apetito; bloquea la secreción de glucagón.	La actividad de Exendin-4 se puede analizar in vitro usando un ensayo de absorción de [3-H]-glucosa. (J Biol Chem 1999 Oct 22; 274(43): 30864-30873).	Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X.
T20 (péptido inhibidor de VIH T20, DP 178; péptido inhibidor de VIH DP 178)	un péptido de los residuos 643-678 del ectodominio de proteína transmembrana gp41 de VIH que se une a gp41 en su estado de reposo e impide la transformación al estado fusogénico	Ensayos de inhibición de virus como se describe en Zhang y col., Sep. 26 2002, Scienceexpress (www.scienceexpress.org).	Infección por VIH; SIDA; VIS (virus de inmunodeficiencia en simios).
T1249 (péptido inhibidor del VIH T1249; péptido anti-VIH T1249)	un inhibidor de fusión del VIH de segunda generación	Ensayos de inhibición de virus como se describe en Zhang y col., Sep. 26 2002, Scienceexpress (www.scienceexpress.org).	Infección por VIH; SIDA; VIS (virus de inmunodeficiencia en simios)
Híbridos de interferón, preferidos específicamente: Híbrido IFNalpha A/D (versión BgIII) Híbrido IFNalpha A/D (versión Pvull) Híbrido IFNalpha A/F Híbrido IFNalpha A/B Híbrido IFNbeta 1/alfa D (híbrido IFNbeta-1/alfa-1) Híbrido IFNalpha/beta	Conforma una gama de respuestas celulares que incluyen actividades antivirales, antiproliferativas, antitumorales e inmunomoduladoras; estimula la producción de dos enzimas: una proteína quinasa y una oligoadenilato sintetasa. Además, modula la expresión del antígeno MHC, la actividad de células NK y la producción de IFNg y la producción de IL 12 en monocitos.	Ensayo antiviral: Rubinstein S, Familletti PC, Pestka S. (1981) Convenient assay for interferons. J. Virol. 37(2): 755-8; Ensayo antiproliferación: Gao Y, y col (1999) Sensitivity of an epstein-barr virus- positive tumor line, Daudi, to alpha interferon correlates with expression of a GC-rich viral transcript. Mol Cell Biol. 19(11): 7305- 13.	Infecciones virales; Infecciones por VIH; Hepatitis; Hepatitis crónica; Hepatitis B; Hepatitis crónica B; Hepatitis C; Hepatitis crónica C; Hepatitis D; Hepatitis crónica D; Virus del papiloma humano; Infección por virus del herpes simple; Condylomata Acuminata externos; VIH; Infección por VIH; Oncología; Cáncer; Tumores sólidos; Melanoma; Melanoma maligno; Cáncer renal (por ejemplo, Carcinoma de células renales); Cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón no microcítico o cáncer de pulmón microcítico); Cáncer de mama; Cáncer de hígado; Cáncer de próstata; Cáncer de vejiga; Cáncer

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			gástrico; Sarcoma; Sarcoma de Kaposi relacionado con el SIDA; Linfoma; Linfoma de células T; Linfoma de células T cutáneo; Linfoma no Hodgkin; Cáncer cerebral; Glioma; Glioblastoma multiforme; Displasia cervical; Leucemia; Preleucemia; Trastornos de la médula ósea; Trastornos óseos; Leucemia de células pilosas; Leucemia mielógena crónica; Malignidades hematológicas; Trastornos hematológicos; Mieloma múltiple; Infecciones bacterianas; Quimioprotección; Trombocitopenia; Esclerosis múltiple; Fibrosis pulmonar; Degeneración macular relacionada con la edad; Degeneración macular; Enfermedad de Crohn; Trastornos neurológicos; Artritis; Artritis reumatoide; Colitis ulcerosa; Osteoporosis, Osteopenia, Osteoclastogénesis; Fibromialgia; Síndrome de Sjogren; Síndrome de fatiga crónica; Fiebre; Fiebre hemorrágica; Fiebres hemorrágicas virales; Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye,

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunológicos; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X.
Péptido natriurético de tipo B (PNB, péptido natriurético cerebral)	estimula la relajación y vasodilatación del músculo liso, la natriuresis y la supresión de renina-angiotensina y endotelina.	La inhibición de la angiotensina se puede determinar usando ensayos conocidos en la técnica, por ejemplo, usando un ensayo de proliferación in vitro con fibroblastos cardíacos de rata como se describe en Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1999 May; 359(5): 394-9. La vasodilatación se puede medir en animales midiendo las respuestas miogénicas de las arterias renales pequeñas en un sistema de arteriografía isobárica (ver Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2002 Ago; 283(2): R349-R355). La natriuresis se determina midiendo la cantidad de sodio en la orina.	Insuficiencia cardíaca congestiva; sobrecarga del volumen cardíaco; descompensación cardíaca; Insuficiencia cardíaca; Disfunción ventricular izquierda; Disnea
α -defensina, incluyendo defensina alfa 1, defensina alfa 2, defensina alfa 3 (defensina relacionada con mieloides; DEFA1; defensina específica para neutrófilos; CAF)	Supresión de la replicación del VIH; activo contra bacterias, hongos y virus encapsulados.	Ensayos de inhibición de virus como se describe en Zhang y col., Sep. 26 2002, Scienceexpress (www.sciencexpress.org).	VIH, SIDA; ARC.
Fosfationina (fosfoglicoproteína extracelular de matriz; MEPE)	Regulación del metabolismo del fosfato.	Los niveles de fosfato en sangre se pueden medir usando procedimientos conocidos en la técnica tales como el bioensayo de rata hipofosfatémica. Zoolog Sci 1995 Oct; 12(5): 607-10.	Hiperfosfatemia; Hiperfosfatemia en insuficiencia renal crónica; hipofosfatemia; Osteomalacia; raquitismo; raquitismo /osteomalacia hipofosfatémicos dominantes ligados al X (XLH); raquitismo/osteomalacia hipofosfatémicos dominantes autosómicos (ADHR);

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			raquitismo/osteomalacia inducidos por tumores (TIO).
PI pal-12 (pepducina, pepducina basada en PAR1)	Regulación de la transducción de señales del receptor activado por proteasa (PAR) y agregación mediada por trombina de plaquetas humanas.	La agregación plaquetaria se puede medir utilizando procedimientos conocidos en la técnica, tal como se describe en Nature Medicine 2002 Oct; 8(10): 1161-1165.	Protección contra trastornos sistémicos de activación plaquetaria, trombo, ataque cardíaco, accidente cerebrovascular y/o trastornos de la coagulación.
P4pal-10 (pepducina, pepducina basada en PAR4)	Regulación de la transducción de señales del receptor activado por proteasa (PAR) y agregación mediada por trombina de plaquetas humanas.	La agregación plaquetaria se puede medir utilizando procedimientos conocidos en la técnica, tal como se describe en Nature Medicine 2002 Oct; 8(10): 1161-1165.	Protección contra trastornos sistémicos de activación plaquetaria, trombo, ataque cardíaco, accidente cerebrovascular y/o trastornos de la coagulación.
HRDFD27	Involucrado en la proliferación de células T; Producción de TNFgamma.	La proliferación de células T se puede medir usando ensayos conocidos en la técnica. Por ejemplo, "Lymphocytes: a practical approach" editado por: SL Rowland, AJ McMichael - capítulo 6, páginas 138-160 Oxford University Press (2000); y "Current Protocols on CD-ROM" sección 3.12 Proliferation Assays for T-cell Function John Wiley & Soncs, Inc. (1999).	Quimioprotección; Aduvante a la quimioterapia; Trastornos inflamatorios; Cáncer; Leucemia; Leucemia mielocítica; Neutropenia, neutropenia primaria (por ejemplo, síndrome de Kostmann); Neutropenia secundaria; Prevención de neutropenia; Prevención y tratamiento de neutropenia en pacientes infectados por VIH; Prevención y tratamiento de neutropenia asociada con quimioterapia; Infecciones asociadas con neutropenias; Mieloplasia; Trastornos autoinmunes; Psoriasis; Movilización de células progenitoras hematopoyéticas;

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			Curación de heridas; Enfermedad autoinmune; Trasplantes; Trasplantes de médula ósea; Leucemia mielógena aguda; Linfoma, linfoma no Hodgkin; Leucemia linfoblástica aguda; Enfermedad de Hodgkin; Recuperación mieloide acelerada; Enfermedad por almacenamiento de glucógeno
HWHGZ51 (CD59; homólogo de proteína adherida GPI asociada a metástasis)	Estimula una respuesta inmunitaria e induce inflamación induciendo la infiltración de células mononucleares, eosinófilos y PMN; Inhibe el crecimiento del cáncer de mama, cáncer de ovario, leucemia y melanoma; Sobreexpresado en tumores de colon, pulmón, mama y recto; Regula la actualización de glucosa y/o FFA mediante adipocitos y músculo esquelético; Induce la rediferenciación de condrocitos	La capacidad de afectar la diferenciación de condrocitos se puede medir usando procedimientos conocidos en la técnica, tal como se describe en Bone (1995) Sep; 17(3): 279-86.	Enfermedades y trastornos esqueléticos; Enfermedades y trastornos musculoesqueléticos; Fracturas y/o roturas óseas; Osteoporosis (postmenopáusica, senil o juvenil idiopática); Gota y/o pseudogota; Enfermedad de Paget; Osteoartritis; Tumores y/o cánceres óseos (ostecondromas, condromas benignos, condroblastomas, fibromas condromixoides, osteomas osteoides, tumores de células gigantes, mielomas múltiples, osteosarcomas, fibrosarcomas, histiocitomas fibrosos malignos, condrosarcomas, tumores de Ewing y/o linfomas malignos); Infecciones óseas y articulares (osteomielitis y/o artritis infecciosa); Articulaciones de Charcot; Espuelas de talón; Enfermedad de Sever; Lesiones deportivas; Cáncer; Tumores sólidos; Melanoma; Melanoma maligno; Cáncer renal (por ejemplo, Carcinoma de células renales);

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			Cáncer pulmonar (por ejemplo, Cáncer de pulmón no microcítico o cáncer de pulmón microcítico) Cáncer de colon; Cáncer de mama; Cáncer de hígado; Cáncer de próstata; Cáncer de vejiga; Cáncer gástrico; Sarcoma; Sarcoma de Kaposi relacionado con el SIDA; Linfoma; Linfoma de células T; Linfoma de células T cutáneo; Linfoma no Hodgkin; Cáncer cerebral; Glioma; Glioblastoma multiforme; Displasia cervical; Leucemia; Preleucemia; Enfermedades de la médula ósea; Enfermedades óseas; Leucemia de células pilosas; Leucemia mielógena crónica; Malignidades hematológicas; Trastornos hematológicos; Mieloma múltiple; Enfermedades y trastornos renales; Púrpura de Shonlein-Henoch, Enfermedad de Berger, Enfermedad celíaca, dermatitis herpetiforme, Enfermedad de Crohn; Diabetes; Diabetes insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, enfermedad cardíaca, hiperglucemia, infecciones, retinopatía

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X; Trastornos renales; Hiperinsulinemia; Hipoinsulinemia; Trastornos inmunológicos (por ejemplo, artritis, asma, enfermedades de inmunodeficiencia, SIDA, artritis reumatoide, enfermedad granulomatosa, enfermedad inflamatoria intestinal, sepsis, acné, neutropenia, neutrofilia, psoriasis, hipersensibilidad, citotoxicidad mediada por células T, enfermedad huésped contra injerto, trastornos autoinmunes, desmielinización, lupus eritematoso sistémico, anemia hemolítica inducida por fármacos, artritis reumatoide, enfermedad de Sjorgren, esclerodermia)
C17 (proteína similar a citocina C17)	Inhíbe la absorción de glucosa y/o FFA por los adipocitos; Induce la proliferación de células mesangiales renales; Regulación de la producción de citocinas y presentación de antígenos	La proliferación de células mesangiales renales se puede analizar usando técnicas descritas en J. Investig. Med. (1998) Ago; 46(6): 297-302.	Enfermedades y trastornos renales; Púrpura de Shonlein-Henoch, Enfermedad de Berger, Enfermedad celíaca, dermatitis herpetiforme, Enfermedad de Crohn; Diabetes; Diabetes insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, enfermedad cardíaca, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X; Trastornos renales; Hiperinsulinemia; Hipoinsulinemia; Trastornos hematopoyéticos; Enfermedades y trastornos inmunológicos; Enfermedades y trastornos del desarrollo; Enfermedades y trastornos hepáticos; Cáncer (particularmente leucemia); Trastornos inmunológicos (por ejemplo, artritis, asma, enfermedades de inmunodeficiencia, SIDA, artritis reumatoide, enfermedad granulomatosa, enfermedad inflamatoria intestinal, sepsis, acné, neutropenia, neutrofilia, psoriasis, hipersensibilidad, citotoxicidad mediada por células T, enfermedad huésped contra injerto, trastornos autoinmunes, desmielinización, lupus eritematoso sistémico, anemia hemolítica inducida por fármacos, artritis reumatoide, enfermedad de Sjogren, esclerodermia)

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
HDPBQ71	Regula la producción y secreción de IFN γ ; Activación de células mieloides y/o células hematopoyéticas	Tales ensayos que se pueden usar o modificar de forma rutinaria para evaluar la actividad inmunomoduladora de los polipéptidos de la invención (que incluyen anticuerpos y agonistas o antagonistas de la invención) incluyen los ensayos descritos en Miraglia y col., J Biomolecular Screening 4: 193-204 (1999); Rowland y col., "Lymphocytes: a practical approach" Capítulo 6: 138-160 (2000); González y col., J Clin Lab Anal 8(5): 225-233 (1995); Billiau y col., Ann NY Acad Sci 856: 22-32 (1998); Boehm y col., Annu Rev Immunol 15: 749-795 (1997), and Rheumatology (Oxford) 38(3): 214-20 (1999)	Trastornos de la sangre e infección (por ejemplo, infecciones virales, tuberculosis, infecciones asociadas con la enfermedad granulomatosa crónica y osteoporosis maligna); Enfermedad autoinmune (por ejemplo, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple); Inmunodeficiencia, potenciar una respuesta inmunitaria mediada por células T y suprimir una respuesta inmunitaria mediada por células T; Inflamación y trastornos inflamatorios; Fibrosis pulmonar idiopática; Enfermedades neoplásicas (por ejemplo, leucemia, linfoma, melanoma); Neoplasias y cánceres, tales como, por ejemplo, leucemia, linfoma, melanoma y cáncer de próstata, mama, pulmón, colon, páncreas, esófago, estómago, cerebro, hígado y cáncer urinario;. Trastornos displásicos benignos y afecciones pre-neoplásicas, tales como, por ejemplo, hiperplasia, metaplasia y/o displasia; Anemia; Pancitopenia; Leucopenia; Trombocitopenia; Enfermedad de Hodgkin; Anemia linfocítica aguda (ALA); Plasmacitomas; Mieloma múltiple; Linfoma de Burkitt; Artritis; SIDA; Enfermedad granulomatosa; Enfermedad inflamatoria intestinal; Sepsis; Neutropenia; Neutrofilia; Psoriasis; Supresión de reacciones inmunitarias a órganos y tejidos

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			trasplantados; Hemofilia; Hipercoagulación; Diabetes mellitus; Endocarditis; Meningitis; Enfermedad de Lyme; Asma; Alergia
RAOSC (isoforma 3 de receptor asociado a osteoclastos)	Regulador de diferenciación de osteoclastos; regulador de respuestas inmunitarias innatas y adaptativas	El ensayo para detectar la diferenciación de osteoclastos se describe en J. Exp. Med. (2002) Ene 21; 195(2): 201-9.	Enfermedades y trastornos esqueléticos; Enfermedades y trastornos musculoesqueléticos; Fracturas y/o roturas óseas; Osteoporosis (postmenopáusica, senil o juvenil idiopática); Gota y/o pseudogota; Enfermedad de Paget; Osteoartritis; Tumores y/o cánceres óseos (ostecondromas, condromas benignos, condroblastomas, fibromas condromixoides, osteomas osteoides, tumores de células gigantes, mielomas múltiples, osteosarcomas, fibrosarcomas, histiocitomas fibrosos malignos, condrosarcomas, tumores de Ewing y/o linfomas malignos); Infecciones óseas y articulares (osteomielitis y/o artritis infecciosa); articulaciones de Charcot; espolones en el talón; enfermedad de Sever; lesiones deportivas

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
Tumstatina (péptido T5, T7 o T8; $\alpha 3(IV)NCl$)	Inhibe la angiogénesis; inhibe el crecimiento tumoral; inhibe la síntesis de proteínas	Un ensayo de proliferación de células tumorales se describe en J. Biol. Chem. (1997)272:20395- 20401. La síntesis de proteínas se puede medir como se describe en Science (2002) Ene 4; 295(5552): 140-3.	Cáncer; tumores sólidos; melanoma; melanoma maligno; cáncer renal (por ejemplo, carcinoma de células renales); cáncer de pulmón (por ejemplo, Cáncer de pulmón no microcítico o cáncer de pulmón microcítico) Cáncer de colon; Cáncer de mama; Cáncer de hígado; Cáncer de próstata; Cáncer de vejiga; Cáncer gástrico; Sarcoma; Sarcoma de Kaposi relacionado con el SIDA; Linfoma; Linfoma de células T; Linfoma de células T cutáneo; Linfoma no Hodgkin; Cáncer cerebral; Glioma; Glioblastoma multiforme; Displasia cervical; Leucemia; Preleucemia; Trastornos de la médula ósea; Trastornos óseos; Leucemia de células pilosas; Leucemia mielógena crónica; Malignidades hematológicas; Trastornos hematológicos; Mieloma múltiple; Angiogénesis
FNTC (Factor neurotrófico ciliar)	Mejora la formación de mielina; reduce la degradación de fotorreceptores; regula las corrientes de calcio	La regulación de la formación de mielina se puede analizar como se describe en J. Neurosci. (2002) nov. 1; 22(21): 9221- 7.	Enfermedades y trastornos neurológicos y neurales, particularmente enfermedades y trastornos asociados con mielina y desmielinización, tales como, por ejemplo, ELA, esclerosis múltiple, enfermedad de Huntington; lesiones neuronales y de la médula espinal; trastornos oculares, tales como, por ejemplo, retinitis pigmentosa, ceguera, daltonismo, degeneración macular.
Somatostatina (Octreotida;	Inhibe la hormona del	La inhibición de la liberación	Cáncer; Tumores

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
acetato de octreotida; Sandostating LAR ®)	crecimiento, glucagones e insulina; Suprime la respuesta de LF a GnRH; disminuye el flujo sanguíneo esplácnico; inhibe la liberación de serotonina, gastrina, péptido intestinal vasoactivo, secretina, motilina y polipéptido pancreático.	de la hormona del crecimiento en humanos por somatostatina se puede medir como se describe en J. Clin. Endocrinol. Metab. (1973) Oct; 37(4): 632-4. La inhibición de la secreción de insulina por somatostatina se puede medir como se describe en Lancet (1973) dic. 8; 2(7841): 1299- 1301.	carcinoides metastásicos; Adenomas secretores de péptidos intestinales vasoactivos; Diarrea y eritema; Trastornos de próstata y cánceres; Cáncer de mama; Trastornos gastrointestinales y cánceres; Cánceres del sistema endocrino; Paragangliomas de cabeza y cuello; Trastornos hepáticos y cánceres; Cánceres nasofaríngeos; Trastornos tiroideos y cánceres; Acromegalia; Síndrome carcinoide; Trastornos de la vesícula biliar, como enfermedades por contractilidad de la vesícula biliar y secreción biliar anormal; Psoriasis; Diabetes; Diabetes insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, enfermedades cardíacas, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X; Trastornos renales; Trastornos y enfermedades neurológicas, incluida la enfermedad de

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			Alzheimer, la enfermedad de Parkinson y demencia; Trastornos neuropsicóticos, incluido el trastorno afectivo bipolar; Artritis reumatoide; Hipertensión; Hipertensión intracraneal; Varices esofágicas; Enfermedad de Graves; Convulsiones; Epilepsia; Gastritis; Angiogénesis;
IL-22 (IL22, interleucina- 22; IL17D, IL27)	Estimula la absorción de glucosa en las células musculares esqueléticas; aumenta la sensibilidad a la insulina muscular esquelética.	La actividad de IL-22 se puede analizar in vitro usando un ensayo de absorción de [3-H]-glucosa. (J Biol Chem 1999 Oct 22; 274(43): 30864-30873).	Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperetonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X.
HCE1P80	Estimula la absorción de glucosa; aumenta la sensibilidad a la insulina,	La actividad de HCE1P80 se puede analizar in vitro usando un ensayo de absorción de [3-H]-glucosa. (J Biol Chem 1999 Oct 22; 274(43): 30864-30873).	Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperetonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye,

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X.
HDRM82	Estimula la absorción de glucosa; aumenta la sensibilidad a la insulina.	La actividad de HDRM82 se puede analizar in vitro usando un ensayo de absorción de [3- H]-glucosa. (J Biol Chem 1999 Oct 22; 274(43): 30864-30873).	Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X.
HDALV07 (adiponectina; precursor de proteína 28k de unión a gelatina; transcripción génica más abundante adiposa; APM-1; GBP28; ACRP30; ADIPOQ)	Modula la acción de la insulina	La actividad de la insulina se puede analizar in vitro utilizando un ensayo de absorción de [3- H]-glucosa. (J Biol Chem 1999 Oct 22; 274(43): 30864-30873).	Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X; Hiperglucemia; Hiperlipidemia familiar combinada; Síndrome metabólico; Trastornos inflamatorios; Trastornos aterogénicos
Péptido C	Un precursor de insulina implicado en la regulación de la insulina	Las concentraciones de péptido C se pueden medir usando ensayos conocidos en la técnica, tal como el descrito en PNAS (1970) Sep; 67(1): 148-55	Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X; Hiperglucemia; Hiperlipidemia familiar combinada; Síndrome metabólico
HCBOG68 (adipoquina entérica; SID graso; proteína ácida rica en prolina)	Controla la proliferación/ diferenciación o metabolismo/ fisiología/patología/de adipocitos y tejido adiposo en respuesta a condiciones dietéticas.	La activación de la transcripción mediada por cAMP en adipocitos se puede analizar usando procedimientos conocidos en la técnica (Berger y col., Gene 66: 1- 10 (1998); Cullen y Malm, Methods in Enzymol 216: 362-368 (1992); Henthorn y col, Proc Natl Acad Sci EE. UU. 85: 6342-6346 (1988); Reusch y col., Mol Cell Biol 20(3): 1008-1020 (2000);	Tratamiento de la obesidad; tratamiento de la diabetes; supresión del aumento de peso corporal; supresión del apetito. Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia;

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
		y Klemm y col., J Biol Chem 273: 917-923 (1998)).	Hipercetonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X. Otras indicaciones para anticuerpos y/o antagonistas incluyen el tratamiento de la pérdida de peso; tratamiento de la emaciación por SIDA; estimulante del apetito; tratamiento de la caquexia.
PYY (péptido YY), incluyendo PYY ₃₋₃₆ (residuos de aminoácidos 31-64 de PYY de longitud completa, residuos de aminoácidos 3-36 de PYY maduro)	Disminuye el apetito; aumenta la saciedad; disminuye la ingesta de alimentos.	El apetito y la ingesta de alimentos se pueden medir mediante procedimientos conocidos en la técnica (Batterham y col. Nature 2002; 418: 650654).	Más preferido: Tratamiento de la obesidad; tratamiento de la diabetes; supresión del aumento de peso corporal; supresión del apetito. Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hipercetonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X. Otras indicaciones para anticuerpos, antagonistas: tratamiento de la pérdida de peso; tratamiento de la emaciación por SIDA; estimulante del apetito; tratamiento de la caquexia.
WNT10b	Inhibe la adipogénesis.	La actividad de WNT10b se puede medir usando ensayos de inhibición de adipogénesis (Ross y col., Science 2000; 289(5481): 950-953	Más preferido: Tratamiento de la obesidad; supresión del aumento de peso corporal; supresión del apetito. Otras indicaciones: Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperce-tonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI).
WNT11	Promueve la cardiogénesis.	La actividad de WNT11 se puede medir usando ensayos conocidos en la técnica, que incluyen ensayos de cardiogénesis (Eisenberg y col., Dev Dyn 1999 Sep; 216(1): 45-58).	Tratamiento de trastornos cardiovasculares; insuficiencia cardíaca congestiva; infarto del miocardio.

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
Herstatina	Inhibe la proliferación del cáncer.	La actividad de la herstatina se puede medir usando ensayos de proliferación celular conocidos en la técnica (Doherty y col., PNAS 1999; 96(19): 10869-10874.	Oncología; Cáncer; Tumores sólidos; Melanoma; Melanoma maligno; Cáncer renal (por ejemplo, carcinoma de células renales); Cáncer de pulmón (por ejemplo, Cáncer de pulmón no microcítico o cáncer de pulmón microcítico); Cáncer de colon; Cáncer de mama; Cáncer de hígado; Cáncer de próstata; Cáncer de vejiga; Cáncer gástrico; Sarcoma; Sarcoma de Kaposi relacionado con el SIDA; Linfoma; Linfoma de células T; Linfoma de células T cutáneo; Linfoma no Hodgkin; Cáncer cerebral; Glioma; Glioblastoma multiforme; Displasia cervical; Leucemia; Preleucemia; Leucemia de células pilosas; Leucemia mielógena crónica; Malignidades hematológicas; Trastornos hematológicos; Mieloma múltiple.
Adrenomedulina	estimula la vasodilatación; promueve el crecimiento óseo.	La vasodilatación se puede medir utilizando ensayos conocidos en la técnica (Ashton y col. Pharmacology 2000; 61(2): 101-105. La promoción del crecimiento óseo se puede medir usando ensayos conocidos en la técnica, tal como el ensayo de proliferación de osteoblastos (Cornish y col. Am J Physiol 1997 Dic; 273(6 Pt 1): E1113-20).	Tratamiento de insuficiencia cardíaca congestiva; Hipertensión; Infarto del miocardio; Shock séptico; Osteoporosis; Osteoporosis posmenopáusica; Osteopenia.
Receptor Nogo	Receptor para el inhibidor del crecimiento axónico, Nogo.	La promoción de la regeneración y el crecimiento de axones se puede medir utilizando ensayos conocidos en la técnica (Fournier y col. Nature 2001; 409(6818): 341-346).	Tratamiento de daño del sistema nervioso central; Lesión de la médula espinal; Daño del nervio periférico; Enfermedades neurodegenerativas; Enfermedad de Parkinson; Enfermedad

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			de Alzheimer; Enfermedad de Huntington; Esclerosis lateral amiotrófica; Parálisis supranuclear progresiva; Enfermedad de Creutzfeld-Jacob; Enfermedad de neuronas motoras.
TRCA (transcripción regulada por cocaína y anfetamina)	Inhibe el almacenamiento de alimentos y grasas intactos; promueve la oxidación de lípidos.	El apetito y la ingesta de alimentos se pueden medir mediante procedimientos conocidos en la técnica (Batterham y col. Nature 2002; 418: 650654).	Más preferido: Tratamiento de la obesidad; supresión del aumento de peso corporal; supresión del apetito. Otras indicaciones: Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI).
RegIV (Gen específico del colon; Proteína específica del colon)	Estimula la absorción de glucosa; aumenta la sensibilidad a la insulina.	La actividad de RegIV se puede analizar in vitro usando un ensayo de absorción de [3- H]-glucosa. (J Biol Chem 1999 Oct 22; 274(43): 30864- 30873).	Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X.

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
Cosyntropin (Cortrosyn) (CAS-16960- 16-0)	Corticotropina sintética; estimula la liberación de cortisol.	La actividad de la cosíntropina se puede evaluar in vivo midiendo los niveles séricos de cortisol. (Frank y col. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1998 212(10): 1569-71).	Endocrina; Enfermedad de Addison; Síndrome de Cushing; disfunción pituitaria; crisis suprarrenal aguda
Acetato de pexiganano (CAS- 172820- 23-4)	Altera las membranas bacterianas.	La actividad de acetato de pexiganano se puede evaluar usando ensayos antibacterianos in vitro conocidos en la técnica. (Zasloff y col. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1999, 43: 782- 788).	Tratamiento de enfermedades infecciosas; Tratamiento de infecciones bacterianas.
Pramlintida (amilina) (CAS-151126- 32-8)	Disminuye el vaciado gástrico; disminuye la ingesta de alimentos.	El apetito y la ingesta de alimentos se pueden medir mediante procedimientos conocidos en la técnica (Batterham y col. Nature 2002; 418: 650654).	Tratamiento de la obesidad; tratamiento de la diabetes; supresión del aumento de peso corporal; supresión del apetito; tratamiento de trastornos endocrinos; Hiperglucemia; Diabetes; Diabetes insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperce-tonemia; Diabetes mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X. Otras indicaciones para anticuerpos, antagonistas: tratamiento de la pérdida de peso; tratamiento de la emaciación por SIDA; estimulante del apetito; tratamiento de la

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			caquexia.
Teriparatida (CAS-52232-67-4)	Actúa en conjunción con calcitonina para controlar el metabolismo de calcio y fosfato; eleva el nivel de calcio en sangre; estimula la actividad de los osteocitos; mejora la absorción de Ca^{+}/Pi del intestino delgado en sangre; promueve la reabsorción de Ca^{+} e inhibe Pi por túbulos renales.	Estimulación de adenilil ciclasa en células de osteosarcoma de rata, modelo de osteoporosis en rata ovariectomizada: IUBMB Life 2000 Feb; 49(2): 131-5	Trastornos óseos; Prevención de fracturas; Hipercalcemia; Hipercalcemia maligna; Osteoporosis; Enfermedad de Paget; Osteopenia, Osteoclastogénesis; osteólisis; osteomielitis; osteonecrosis; pérdida ósea periodontal; osteoartritis; artritis reumatoide; osteopetrosis; enfermedad ósea periodontal, lítica o metastásica; inhibición de la diferenciación de osteoclastos; trastornos óseos; cura y regeneración ósea.

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
Terlipresina (triglicil icina vasopresina) (CAS- 14636-12-5)	Analógico de vasopresina; induce vasoconstricción.	La actividad de la terlipresina se puede medir usando ensayos de vasoconstricción, tal como la preparación de anillo arterial aislado. (Landstrom y col., Hum Reprod 1999 Ene; 14(1): 151-5).	Varicela hemorrágica; cirrosis; hipertensión portal; síndrome hepatorenal; trastornos relacionados con la sangre
Ularitida (CAS-118812- 69-4)	Estimula la natriuresis, la diuresis y la vasodilatación.	La actividad de ularitida se puede evaluar midiendo la acumulación de cGMP en células renales de rata. (Valentin y col., Hypertension 1993 Abr; 21(4): 432-8).	Trastornos excretores; Insuficiencia renal aguda; asma; insuficiencia cardíaca congestiva; hipertensión; hipertensión pulmonar; trastornos cardiovasculares
Aprotinina (Trasilol) (CAS- 9087-70-1; CAS-11061-94-2; CAS-12407-79-3)	Inhibidor de la proteasa serina; atenúa la respuesta inflamatoria sistémica, fibrinólisis y agregación plaquetaria inducida por trombina.	La inhibición de la agregación plaquetaria inducida por trombina se puede medir usando procedimientos conocidos en la técnica. (Poullis y col., J Thorac Cardiovasc Surg 2000 Ago; 120(2): 370-8).	Inhibición de la fibrinólisis; reducción de la pérdida de sangre durante cirugías; Tratamiento de la inflamación y trastornos inmunitarios.
Aspartocina (CAS-4117-65-1; CAS- 1402-89-7)	Antibacterial	La actividad de la aspartocina se puede evaluar usando ensayos antibacterianos in vitro conocidos en la técnica. (Zasloff y col., Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1999, 43: 782- 788).	Tratamiento de enfermedades infecciosas; tratamiento de infecciones bacterianas.
Calcitonina (Calcimar) (CAS- 21215-62-3)	Regula los niveles de calcio y fosfato en suero; causa una reducción del calcio sérico, un efecto opuesto al de la hormona paratiroidea humana.	Bioensayo de rata hipocalcémica, ensayo de reabsorción ósea y el ensayo de foso (pit assay), ensayo de unión al receptor CT, ensayo de estimulación CAMP: J Bone Miner Res 1999 Ago; 14(8): 1425-31	Musculoesquelético; Osteoporosis; Enfermedad de Paget; hipercalcemia; Trastornos óseos; Prevención de fracturas; Hipercalcemia maligna; Osteopenia, Osteoclastogénesis; osteólisis; osteomielitis; osteonecrosis; pérdida ósea periodontal; osteoartritis; artritis reumatoide; osteopetrosis; enfermedad ósea periodontal, lítica o metastásica; inhibición de la diferenciación de osteoclastos; trastornos óseos; curación y regeneración óseas.

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
Carperitida (HANP; péptido natriurético auricular humano recombinante) (CAS- 89213- 87-6)	Estimula la natriuresis, la diuresis y la vasodilatación.	La actividad de la carperitida se puede evaluar in vitro midiendo la acumulación de cGMP en una cantidad de líneas celulares, incluyendo células PC 12 y células glomerulares humanas cultivadas. (Medvedev y col., Life Sci 2001 Ago 31; 69(15): 1783-90; Green y col., J Am Soc Nephrol 1994 Oct; 5(4): 1091-8).	Tratamiento de la insuficiencia cardíaca; Trastornos cardiovasculares; Trastornos respiratorios; Síndrome de dificultad respiratoria aguda.
Desirudina (hirudina recombinante; Revasc) (CAS- 120993- 53-5)	Inhibe la trombina; inhibe la coagulación de la sangre.	La actividad de la desirudina se puede evaluar utilizando ensayos de coagulación sanguínea conocidos en la técnica, tales como ensayos de agregación plaquetaria in vitro. (Glusa, Haemostasis 1991; 21 Supl 1: 116-20).	Trastorno relacionado con la sangre; Trombosis; trombocitopenia; hemorragias.
Emoctakina (interleucina 8) (CAS-142298- 00-8)	citocina proinflamatoria		Tratamiento de la inflamación, trastornos inmunológicos, infección por VSR.
Felipresina (CAS-56-59-7)	Derivado de la Vasopresina; Estimula la vasoconstricción; Induce anestesia local.	La actividad de vasoconstricción de la felipresina se puede medir usando ensayos de vasoconstricción, tal como la preparación de anillo arterial aislado. (Landstrom y col., Hum Reprod 1999 Ene; 14(1): 151-5).	Tratamiento del dolor; para inducir anestesia local.
Glucagón (CAS-16941-32-5)	Induce hiperglucemia.	La actividad del glucagón se puede analizar in vitro usando un ensayo de absorción de [3-H]-glucosa. (J Biol Chem 1999 Oct 22; 274(43): 30864-30873).	Hipoglucemia; Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiperketonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiperglucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			inmunológicos; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X; Trastornos endocrinos.
Nagrestipen (CAS-166089-33-4)			Inflamación; Inmune
Pentigetida (Pentyde) (CAS-62087-72-3)			Respiratorio; Alergia; Inmune
Proinsulina (CAS-67422-14-4)	Estimula la absorción de glucosa y promueve la glucogénesis y la lipogénesis.	La actividad de la insulina puede analizarse in vitro utilizando un ensayo de captación de glucosa [3-H]. (J Biol Chem 1999 Oct 22; 274(43): 30864-30873).	Hiper glucemia; Diabetes; Diabetes Insípida; Diabetes mellitus; Diabetes tipo 1; Diabetes tipo 2; Resistencia a la insulina; Deficiencia de insulina; Hiperlipidemia; Hiper cetonemia; Diabetes Mellitus no dependiente de insulina (DMNDI); Diabetes Mellitus dependiente de insulina (DMDI); Una afección asociada con diabetes que incluye, pero no se limita a, obesidad, cardiopatía, hiper glucemia, infecciones, retinopatía y/o úlceras; Trastornos metabólicos; Trastornos inmunitarios; Obesidad; Trastornos vasculares; Supresión del peso corporal; Supresión del apetito; Síndrome X.

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
Becaplermina (Regranex; PDGF-BB recombinante) (CAS-165101-51-9)	Promueve la curación de heridas.	La actividad de la becaplermina se puede evaluar usando modelos de curación de heridas de animales conocidos en la técnica. (Saba y col. Ann Plast Surg 2002 Jul; 49(1): 62-6).	Estimular la proliferación de células epiteliales; Estimular queratinocitos basales; Promover la curación de heridas; Estimular la producción de folículos pilosos; Curación de heridas dérmicas. Curación de heridas; heridas del tejido ocular, heridas del tejido dental, heridas de la cavidad bucal, úlceras diabéticas, úlceras dérmicas, úlceras cúbito, úlceras arteriales, úlceras por estasis venosa, quemaduras resultantes de exposición al calor o productos químicos u otras afecciones anormales de la curación de heridas como uremia, desnutrición, deficiencias de vitaminas o complicaciones asociadas con el tratamiento sistémico con esteroides, radioterapia o fármacos antineoplásicos o antimetabolitos; promover el restablecimiento dérmico posterior a la pérdida dérmica; aumentar la adherencia de injertos cutáneos a un lecho de herida; estimular la re-epitelización del lecho de la herida; promover el fortalecimiento de la piel; Mejorar la apariencia de la piel envejecida; Proliferar hepatocitos, células de los pulmones, mamas, páncreas, estómago, vejiga, intestino delgado, intestino grueso; sebocitos, folículos pilosos, neumocitos tipo II, células del cáliz que producen mucina u otras células epiteliales, células endoteliales,

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			queratinocitos o queratinocitos basales (y sus progenitores) contenidos dentro de la piel, pulmón, hígado, vejiga, ojo, glándulas salivales o tracto gastrointestinal; Reducir los efectos secundarios de la toxicidad intestinal que resultan de la radiación, tratamientos de quimioterapia o infecciones virales; Citoprotector, especialmente de Mucosa del intestino delgado o vejiga; Mucositis (úlceras bucales); Regeneración de la piel; Defectos cutáneos de espesor completo y/o parcial, incluyendo quemaduras (por ejemplo, repoblación de folículos pilosos, glándulas sudoríparas y glándulas sebáceas); Psoriasis; Epidermólisis bullosa; ampollas; Úlceras gástricas y/o duodenales; Reducir cicatrices; Enfermedades inflamatorias intestinales; Enfermedad de Crohn; Colitis ulcerosa; Toxicidad intestinal; Daño pulmonar; Reparación de alvéolos y/o epitelio bronquiolar; Daño pulmonar agudo o crónico; Enfisema, SDRA; Lesiones por inhalación; Enfermedades de la membrana hialina; Síndrome de dificultad respiratoria infantil; Displasia broncopulmonar en bebés prematuros; Insuficiencia hepática fulminante; Cirrosis, daño hepático causado

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			por hepatitis viral y/o sustancias tóxicas; Diabetes mellitus; Inflamación; Cáncer; Trastornos digestivos.
Ghrelin (Genbank N.º de acceso AB029434)	Estimula la liberación de hormona del crecimiento de la pituitaria anterior. Estimula el apetito y reduce la quema de grasa	Apetito e ingesta de alimentos pueden ser medidos por procedimientos conocidos en la técnica (Batterham y col. Nature 2002; 418: 650654).	Endocrina; pérdida de peso corporal, pérdida de __ peso corporal asociado con cáncer o anorexia nerviosa; pérdida de apetito; apetito excesivo; aumento de peso corporal; Obesidad;

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
			Diabetes; Acromegalia; Insuficiencia del crecimiento; Deficiencia de la hormona del crecimiento; Insuficiencia del crecimiento y retraso del crecimiento Síndrome de Prader-Willi en niños de 2 años o más; Deficiencias del crecimiento; Insuficiencia del crecimiento asociada con insuficiencia renal crónica; Osteoporosis posmenopáusica; quemaduras; caquexia; caquexia por cáncer; enanismo; trastornos metabólicos; obesidad; insuficiencia renal; Síndrome de Turner, pediátrico y adulto; fibromialgia; tratamiento de fracturas; fragilidad, emaciación por SIDA
Ghrelin - anticuerpo de unión que incluye fragmento de anticuerpo o forma dominante negativa de Ghrelin	Inhibe la liberación de hormona del crecimiento en respuesta a Ghrelin; inhibe el aumento del apetito.	El apetito y la ingesta de alimentos se pueden medir mediante procedimientos conocidos en la técnica (Batterham y col. Nature 2002; 418: 650654).	Endocrina; Obesidad; Diabetes; aumento de peso corporal; apetito excesivo; pérdida de apetito; pérdida de peso corporal.
Fragmento de péptido NOGO-66 de receptor (Nº de acceso Genbank NP_008939 (aminoácidos 62-101))			Trastornos neurodegenerativos; lesión de la médula espinal; lesión neuronal; traumatismo cerebral; accidente cerebrovascular; esclerosis múltiple; trastornos desmielinizantes; actividad neuronal y enfermedades neurológicas; regeneración y/o crecimiento de células neuronales (por ejemplo, neuronas, células gliales y células de Schwann)
Polipéptido inhibidor gástrico (GIP), incluidos fragmentos GIP (Nº de acceso Genbank NM_004123)	Aumenta la absorción de nutrientes y la acumulación de triglicéridos en los adipocitos, lo que lleva a obesidad y a resistencia a	La absorción de nutrientes y la acumulación de triglicéridos se pueden medir mediante los procedimientos descritos en Miyawaki y col. Nat. Medicine, 2002, Vol. 8(7): 738-742.	Lo más preferido: pérdida de peso corporal, emaciación por SIDA, caquexia y pérdida del apetito. Otros: Obesidad; Diabetes;

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
	la insulina.		resistencia a la insulina; aumento de peso corporal; apetito excesivo.
Anticuerpo de polipéptido inhibidor gástrico o fragmentos de anticuerpo	Aumento del uso de grasa como fuente de energía predominante; disminución de la acumulación de grasa en adipocitos.	La utilización de grasa como fuente de energía puede medirse como se describe en Miyawaki y col. Nat. Medicine, 2002, Vol. 8(7): 738-742.	Obesidad; Diabetes; Resistencia a la insulina; aumento de peso corporal.
Receptores de péptidos inhibidores gástricos o fragmentos o variantes de receptores que incluyen fragmentos o variantes solubles (Número de acceso Genbank NM_000164)	Aumento del uso de grasa como fuente de energía predominante; disminución de la acumulación de grasa en adipocitos.	La utilización de grasa como fuente de energía puede medirse como se describe en Miyawaki y col. Nat. Medicine, 2002, Vol. 8(7): 738-742.	Más preferido: Obesidad; Diabetes; aumento de peso corporal; apetito excesivo; resistencia a la insulina. Otros: pérdida de peso corporal, emaciación por SIDA, pérdida de apetito.
POMC (proopiomelanocortina), que incluye fragmentos o variantes (tales como, por ejemplo, hormona estimulante de alfa-melanocitos, α MSH, hormona estimulante de gamma melanocitos, γ MSH, hormona estimulante de beta melanocitos, β MSH, adrenocorticotropina, ACTH, beta-endorfina, met-enkefalina) (Nº de acceso Genbank NM_000930)	La actividad de los fragmentos derivados de POMC es diversa y bien conocida en la técnica. Ver, por ejemplo, Hadley y col., Ann NY Acad Sci 1999 Oct 20; 885: 1-21; Dores, Prog Clin Biol Res 1990; 342: 22-7; Blalock, Ann N Y Acad Sci. 1999 oct 20; 885: 161-72).		Preferido: resistencia al estrés; actividad antiinflamatoria; actividad analgésica; aumento de la pigmentación de la piel; aumento del catabolismo proteico; aumento de la gluconeogénesis; obesidad; diabetes. Otros: disminución del catabolismo proteico, disminución de la pigmentación de la piel, enfermedad de Addison, síndrome de Cushing
HP 467, HP228 (Pat. EE. UU. No. 6.350.430)	Ver Pat. EE. UU. No. 6.350.430	Ver Pat. EE. UU. No. 6.350.430	Resistencia al estrés; actividad antiinflamatoria; actividad analgésica; aumento de la pigmentación cutánea; aumento del catabolismo proteico; aumento de la gluconeogénesis.
NDP (Pat. EE. UU. No. 6.350.430)	Ver Pat. EE. UU. No. 6.350.430	Ver Pat. EE. UU. No. 6.350.430	Resistencia al estrés; actividad antiinflamatoria; actividad analgésica; aumento de la pigmentación cutánea; aumento del catabolismo proteico; aumento de la gluconeogénesis.

Polipéptido de carga	Actividad Biológica	Ensayo de actividad ejemplar	Indicación
Interleucina-21 (IL-21)	Inmunomodulador; inhibe la producción de interferón gamma por células Th1,	La actividad de IL-21 se puede evaluar midiendo la producción de interferón gamma en células Th1. (Wurster y col.; J Exp Med 2002 Oct 7; 196(7): 969- 77)	Trastornos autoinmunes; Trastornos inflamatorios; Tratamiento de la psoriasis; Artritis reumatoide; Enfermedad inflamatoria intestinal.
Interleucina-4 (IL-4)	Inmunomodulador; promueve la diferenciación de células T en fenotipo Th2.	La actividad de IL-4 se puede evaluar midiendo las respuestas de citocinas Th1/Th2 de células esplénicas aisladas in vitro. (Waltz y col., Horm Metab Res 2002 Oct; 34(10): 561-9).	Tratamiento de la psoriasis; Trastornos autoinmunes; Artritis reumatoide; Enfermedad inflamatoria intestinal; Trastornos inflamatorios.
Lectina inhibidora de osteoclastos (LIOC)	Inhibe la formación de osteoclastos.	La actividad de la Lectina inhibidora de osteoclastos se puede evaluar usando ensayos de formación de osteoclastos conocidos en la técnica. (Zhou y col., J Biol Chem 2002 Dic 13; 277(50): 48808-15)	Tratamiento de trastornos óseos; Osteoporosis; Prevención de fracturas; Hipercalcemia; Hipercalcemia maligna; Enfermedad de Paget; Osteopenia, Osteoclastogénesis; osteólisis; osteomielitis; osteonecrosis; pérdida ósea periodontal; osteoartritis; artritis reumatoide; osteopetrosis; enfermedad ósea periodontal, lítica o metastásica; inhibición de la diferenciación de osteoclastos; curación y regeneración óseas.
Inhibidor de PCSK9	Inhibe la interacción de PCSK9 con el receptor LDL.	Mayor disminución de LDL a través de la selección de PCSK9 para la enfermedad arterial coronaria. (Cao y col. Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets 2008, 8, 238-243)	Tratamiento de cardiopatías coronarias.

En una realización, el polipéptido de carga es una construcción de polipéptido de unión a antígeno. En otra realización, el polipéptido de carga es una construcción de polipéptido de unión a antígeno que es un anticuerpo, o fragmento o variante del mismo. En una realización, la construcción de polipéptido de unión a antígeno es un fragmento Fab de un anticuerpo, o un scFv, o un anticuerpo de dominio único o fragmento del mismo.

En una realización, el polipéptido de carga se selecciona de entre una construcción de polipéptido de unión a antígeno que se une a CD3, CD19, CD20, HER2 o HER3. Ejemplos adecuados de construcciones de polipéptidos de unión a antígeno son conocidos en la técnica e incluyen los derivados de anticuerpos anti-CD3, anti-CD 19, anti-HER2 y anti-HER3.

Actividad Funcional

"Un polipéptido que tiene actividad funcional" se refiere a un polipéptido capaz de mostrar una o más actividades funcionales conocidas asociadas con la forma de longitud completa, pro-proteína y/o madura de un polipéptido de carga. Dichas actividades funcionales incluyen, pero no se limitan a, actividad biológica, antigenicidad [capacidad de unirse (o competir con un polipéptido para unirse) a un anticuerpo anti-polipéptido], inmunogenicidad (capacidad de

- 5 generar anticuerpo que se une a un polipéptido específico descrito en esta invención), capacidad de formar multímeros con los polipéptidos descritos en esta invención, y capacidad de unirse a un receptor o ligando para un polipéptido. En ciertas realizaciones, la actividad funcional incluye la capacidad de mejorar la expresión y la estabilidad de una proteína asociada.
- 10 "Un polipéptido que tiene actividad biológica" se refiere a un polipéptido que exhibe una actividad similar, pero no necesariamente idéntica a, una actividad de una proteína terapéutica descrita en esta invención, incluyendo formas maduras, según medido en un ensayo biológico particular, con o sin dependencia de la dosis. En el caso de que exista dependencia de la dosis, no necesita ser idéntica a la del polipéptido, sino bastante similar a la dependencia de la
- 15 dosis en una actividad dada en comparación con el polipéptido descrito en esta invención (es decir, el polipéptido candidato exhibirá mayor actividad o no más de aproximadamente 25 veces menos, o no más de aproximadamente diez veces menos actividad, o no más de aproximadamente tres veces menos actividad con respecto a un polipéptido descrito en esta invención, o presentado en la Tabla 2).

- En ciertas realizaciones, un heteromultímero descrito en esta invención tiene al menos una actividad biológica y/o
- 20 terapéutica asociada con la molécula de carga cuando dicha molécula de carga no está unida al polipéptido transportador. En ciertas realizaciones, un heteromultímero descrito en esta invención tiene al menos una actividad biológica y/o terapéutica asociada con el polipéptido de carga cuando dicho polipéptido de carga no está unido al polipéptido transportador. En ciertas realizaciones, una proteína heteromultimérica descrita en esta invención tiene al menos una actividad biológica y/o terapéutica asociada con la porción de polipéptido de carga (o fragmento o variante
- 25 del mismo) cuando dicho polipéptido de carga no está unido al polipéptido basado en albúmina o aloalbúmina.

- Las proteínas heteromultiméricas descritas en esta invención pueden ensayarse para determinar su actividad funcional (por ejemplo, actividad biológica) usando o modificando rutinariamente ensayos conocidos en la técnica, así como los ensayos descritos en esta invención. Además, un experto en la materia puede ensayar de manera rutinaria fragmentos
- 30 de una proteína que corresponde a una porción de proteína de carga de un polipéptido monomérico basado en albúmina o aloalbúmina, para actividad utilizando ensayos referenciados en su fila correspondiente de la Tabla 2 (por ejemplo, en la columna 3 de la Tabla 2) En ciertas realizaciones, se analizan fragmentos de una proteína de albúmina correspondiente a una porción de proteína de albúmina de un heteromultímero, para determinar la actividad utilizando ensayos conocidos en la técnica y/o como se describe en la sección de Ejemplos a continuación.

- 35 Por ejemplo, en una realización en la que se analiza la capacidad de una proteína heteromultimérica descrita en esta invención para unirse o competir con un polipéptido de carga para unirse a un anticuerpo de un polipéptido anti-carga y/o anticuerpo anti-albúmina, varios inmunoensayos conocidos en la matyeria puede usarse, incluidos, entre otros, sistemas de ensayo competitivos y no competitivos que utilizan técnicas tales como radioinmunoensayos, ELISA
- 40 (ensayo inmunsorbente ligado a enzimas), inmunoensayos "sandwich", ensayos inmunoradiométricos, reacciones de precipitación por difusión en gel, ensayos de inmunodifusión, inmunoensayos in situ (utilizando etiquetas de oro coloidal, de enzimas o radioisótopos, por ejemplo), western blots, reacciones de precipitación, ensayos de aglutinación (por ejemplo, ensayos de aglutinación en gel, ensayos de hemaglutinación), ensayos de fijación de complemento, ensayos de inmunofluorescencia, ensayos de proteína A y ensayos de inmunoelectroforesis, etc. En una realización,
- 45 la unión del anticuerpo es detectada detectando una etiqueta en el anticuerpo primario. En otra realización, el anticuerpo primario es detectado mediante la detección de unión de un reactivo o anticuerpo secundario al anticuerpo primario. En una realización adicional, el anticuerpo secundario está marcado. Se conocen en la técnica muchas maneras de detectar la unión en un inmunoensayo y estas se encuentran dentro del alcance de la presente invención.

- 50 En ciertas realizaciones, donde se identifica una pareja de unión (por ejemplo, un receptor o un ligando) para una molécula de carga comprendida por un heteromultímero descrito en esta invención, la unión a esa pareja de unión por un heteromultímero descrito en esta invención se analiza, por ejemplo, por medios bien conocidos en la técnica, tal como, por ejemplo, cromatografía en gel reductora y no reductora, cromatografía de afinidad de proteínas y transferencia por afinidad. Ver en general, Phizicky y col., Microbiol. Rev. 59:94-123 (1995). En otra realización, la
- 55 capacidad de los correlatos fisiológicos de una proteína heteromultimérica para unirse a sustrato(s) de polipéptidos correspondiente(s) a la porción de proteína de carga del heteromultímero se puede analizar de forma rutinaria usando procedimientos conocidos en la técnica.

Actividades Biológicas

60

En ciertas realizaciones, los heteromultímeros descritos en esta invención se usan en ensayos para evaluar una o más actividades biológicas. Si un heteromultímero exhibe una actividad en un ensayo particular, es probable que al menos una proteína de carga comprendida por uno o más monómeros del heteromultímero esté implicada en las enfermedades asociadas con la actividad biológica. Por lo tanto, el heteromultímero es útil en un tratamiento de la enfermedad asociada.

En ciertas realizaciones, se proporciona un procedimiento para tratar una enfermedad o trastorno que comprende administrar a un paciente en el que se desea dicho tratamiento, prevención o mejora, un heteromultímero descrito en esta invención, en una cantidad efectiva para tratar, impedir o mejorar la enfermedad o trastorno.

10

En esta invención se proporcionan proteínas de fusión basadas en albúmina o aloalbúmina monomérica producidas por una célula, donde dichas proteínas están codificadas por polinucleótidos, donde dichas proteínas monoméricas comprenden al menos una proteína de carga, y un polipéptido derivado de albúmina o aloalbúmina, de modo que dichos monómeros formen heteromultímeros en solución. En ciertas realizaciones, cuando los polinucleótidos se usan para expresar la proteína codificada de una célula, la secreción natural de la célula y las etapas de procesamiento producen una proteína que carece de al menos una secuencia de señal. La secuencia de aminoácidos específica de la secuencia de señal es bien conocida en la técnica.

15

En ciertas realizaciones, los heteromultímeros descritos en esta invención se usan en el diagnóstico, pronóstico, prevención y/o tratamiento de enfermedades y/o trastornos del sistema endocrino. En algunas realizaciones, los heteromultímeros descritos en esta invención se usan en el diagnóstico, pronóstico, prevención y/o tratamiento de enfermedades y/o trastornos del sistema nervioso.

20

En ciertas realizaciones, los heteromultímeros descritos en esta invención se usan en el diagnóstico, pronóstico, prevención y/o tratamiento de enfermedades y/o trastornos del sistema inmune. En algunas realizaciones, los heteromultímeros descritos en esta invención se usan en el diagnóstico, pronóstico, prevención y/o tratamiento de enfermedades y/o trastornos del sistema respiratorio.

25

En ciertas realizaciones, los heteromultímeros descritos en esta invención se usan en el diagnóstico, pronóstico, prevención y/o tratamiento de enfermedades y/o trastornos del sistema cardiovascular. En algunas realizaciones, los heteromultímeros descritos en esta invención se usan en el diagnóstico, pronóstico, prevención y/o tratamiento de enfermedades y/o trastornos del sistema reproductivo.

30

En ciertas realizaciones, los heteromultímeros descritos en esta invención se usan en el diagnóstico, pronóstico, prevención y/o tratamiento de enfermedades y/o trastornos del sistema digestivo. En ciertas realizaciones, las proteínas de heteromultímeros descritas en esta invención se usan en el diagnóstico, pronóstico, prevención y/o tratamiento de enfermedades o trastornos relativos a la sangre.

35

En ciertas realizaciones, los heteromultímeros descritos en esta invención se usan en el diagnóstico y/o pronóstico de enfermedades y/o trastornos asociados con al menos un tejido en el que se expresa al menos un gen de interés, donde un heteromultímero descrito en esta invención comprende una molécula de carga que une dicho al menos un gen de interés.

40

En algunas realizaciones, los heteromultímeros descritos en esta invención y/o polinucleótidos que codifican los monómeros basados en albúmina/aloalbúmina que se asocian para formar heteromultímeros descritos en esta invención, se usan en el diagnóstico, detección y/o tratamiento de enfermedades y/o trastornos asociados con actividades que incluyen, pero no se limitan a, activación de prohormonas, actividad de neurotransmisores, señalización celular, proliferación celular, diferenciación celular y migración celular.

45

50 Usos Terapéuticos:

En un aspecto, los heteromultímeros descritos en esta invención están dirigidos a terapias basadas en anticuerpos que implican administrar heteromultímeros descritos que comprenden polipéptido(s) de carga que es un anticuerpo, un fragmento o una variante de un anticuerpo, a un paciente para tratar una o más de las enfermedades, trastornos o afecciones descritos. Los compuestos terapéuticos descritos en esta invención incluyen, entre otros, heteromultímeros descritos en esta invención, ácidos nucleicos que codifican heteromultímeros descritos en esta invención.

55

En una realización específica, son terapias basadas en anticuerpos que implican administrar heteromultímeros descritos en esta invención que comprenden al menos un fragmento o variante de un anticuerpo a un paciente para tratar una o más enfermedades, trastornos o afecciones, incluyendo, sin limitación: trastornos neuronales, trastornos

60

del sistema inmunitario, trastornos musculares, trastornos reproductivos, trastornos gastrointestinales, trastornos pulmonares, trastornos cardiovasculares, trastornos renales, trastornos proliferativos y/o enfermedades y afecciones cancerosas, y/o como se describe en otras partes de esta invención.

- 5 Un resumen de las formas en que las proteínas heteromultiméricas de la invención que comprenden al menos un fragmento o variante de un anticuerpo se usan terapéuticamente incluye la unión local o sistémica en el cuerpo o por citotoxicidad directa del anticuerpo, por ejemplo, como mediada por complemento (CDC) o por células efectoras (ADCC). Algunas de estas estrategias se describen con más detalle a continuación. Armado con las enseñanzas proporcionadas en esta invención, un experto habitual en la materia sabrá cómo usar los heteromultímeros descritos
10 en esta invención para fines de diagnóstico, monitorización o terapéuticos sin experimentación excesiva.

- Los heteromultímeros descritos en esta invención, que comprenden al menos un fragmento o variante de un anticuerpo, se pueden administrar solos o en combinación con otros tipos de tratamientos (por ejemplo, radioterapia, quimioterapia, terapia hormonal, inmunoterapia y agentes antitumorales). En general, se prefiere la administración de productos de
15 un origen de especie o reactividad de especie (en el caso de anticuerpos) que es la misma especie que la del paciente. Por lo tanto, en una realización, los anticuerpos humanos, derivados de fragmentos, análogos o ácidos nucleicos, se administran a un paciente humano para terapia o profilaxis.

Terapia de Genes:

- 20 En una realización específica, los ácidos nucleicos que comprenden secuencias que codifican proteínas de heteromultímeros descritas en esta invención se administran para tratar, inhibir o impedir una enfermedad o trastorno asociado con la expresión y/o actividad aberrante una proteína, a modo de terapia de genes. La terapia de genes se refiere a la terapia realizada por la administración a un sujeto de un ácido nucleico expresado o expresable. En esta
25 realización de la invención, los ácidos nucleicos producen su proteína codificada que media un efecto terapéutico. Se puede usar cualquiera de los procedimientos para terapia de genes disponibles en la técnica.

Demostración de Actividad Terapéutica o Profiláctica:

- 30 Los heteromultímeros o composiciones farmacéuticas descritos en esta invención se prueban in vitro y a continuación in vivo para determinar la actividad terapéutica o profiláctica deseada, antes de su uso en humanos. Por ejemplo, los ensayos in vitro para demostrar la utilidad terapéutica o profiláctica de un compuesto o composición farmacéutica incluyen el efecto de un compuesto sobre una línea celular o una muestra de tejido del paciente. El efecto del compuesto o composición sobre la línea celular y/o muestra de tejido se puede determinar utilizando técnicas
35 conocidas por los expertos en la materia, que incluyen, pero no se limitan a, ensayos de formación de rosetas y ensayos de lisis celular. Según la invención, los ensayos in vitro que pueden usarse para determinar si está indicada la administración de un compuesto específico, incluyen ensayos de cultivo celular in vitro en los que una muestra de tejido del paciente se cultiva en cultivo, y se expone o se administra un heteromultímero, y se observa el efecto de dicho heteromultímero sobre la muestra de tejido.

- 40 **Administración y Composición Terapéutica/Profiláctica**

- Se proporcionan procedimientos de tratamiento, inhibición y profilaxis por administración a un sujeto de una cantidad efectiva de un heteromultímero o composición farmacéutica descrita en esta invención. En una realización, el
45 heteromultímero está sustancialmente purificado (por ejemplo, sustancialmente libre de sustancias que limitan su efecto o producen efectos secundarios no deseados). En determinadas realizaciones, el sujeto es un animal que incluye, sin limitación, animales tales como vacas, cerdos, caballos, gallinas, gatos, perros, etc. y en determinadas modalidades, un mamífero y más preferentemente, un ser humano.

- 50 Se conocen varios sistemas de administración y pueden usarse para administrar una formulación de heteromultímero descrita en esta invención, por ejemplo, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes capaces de expresar el compuesto, endocitosis mediada por receptor (ver, por ejemplo, Wu y Wu, J. Biol. Chem. 262: 4429-4432 (1987)), construcción de un ácido nucleico como parte de un vector retroviral u otro, etc. Los procedimientos de introducción incluyen, pero no se limitan a, las vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal,
55 intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y oral. Los compuestos o composiciones se pueden administrar por cualquier vía conveniente, por ejemplo, por infusión o inyección de bolo, por absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, etc.) y se pueden administrar junto con otros agentes biológicamente activos. La administración puede ser sistémica o local. Además, en ciertas realizaciones, es deseable introducir las composiciones de heteromultímeros descritas en esta invención en el sistema
60 nervioso central por cualquier vía adecuada, incluyendo inyección intraventricular e intratecal; la inyección

intraventricular puede ser facilitada por un catéter intraventricular, por ejemplo, unido a un depósito, tal como un depósito Ommaya. La administración pulmonar también se puede emplear, por ejemplo, mediante el uso de un inhalador o nebulizador, y la formulación con un agente aerosolizante.

- 5 En una realización específica, es deseable administrar los heteromultímeros, o composiciones descritas en esta invención localmente en el área que necesita tratamiento; esto puede lograrse, por ejemplo, y no a modo de limitación, mediante infusión local durante cirugía, aplicación tópica, por ejemplo, junto con un apósito para heridas después de cirugía, por inyección, por medio de un catéter, por medio de un supositorio, o por medio de un implante, siendo dicho implante de un material poroso, no poroso o gelatinoso, incluyendo membranas, tales como membranas sialásticas o
10 fibras. Preferentemente, al administrar una proteína de la invención, incluyendo un anticuerpo, se debe tener cuidado de utilizar materiales que la proteína no absorba.

- En otra realización, los heteromultímeros o la composición pueden administrarse en una vesícula, en particular un liposoma (ver Langer, *Science* 249:1527-1533 (1990); Treat y col., in *Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer*, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353-365 (1989); Lopez-Berestein, *ibid.*, pp. 317-327; ver generalmente *ibid.*)
15

- En otra realización más, los heteromultímeros o la composición pueden administrarse en un sistema de administración controlada. En una realización, se puede usar una bomba (ver Langer, *supra*; Sefton, *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.* 14:201 (1987); Buchwald y col., *Surgery* 88:507 (1980); Saudek y col., *N. Engl. J. Med.* 321:574 (1989)). En otra realización, se pueden usar materiales poliméricos (ver *Medical Applications of Controlled Release*, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974); *Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance*, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, J., *Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23:61 (1983); ver también Levy y col., *Science* 228:190 (1985); During y col., *Ann. Neurol.* 25:351 (1989); Howard y col., *J. Neurosurg.* 71:105 (1989)). En otra realización más, se puede colocar un sistema de administración controlada cerca de la diana terapéutica, por ejemplo, el cerebro, requiriendo así solo una fracción de la dosis sistémica (ver, por ejemplo, Goodson, in *Medical Applications of Controlled Release*, *supra*, vol. 2, pp. 115-138 (1984)).
25

- Otros sistemas de administración controlada se analizan en la revisión de Langer (*Science* 249:1527-1533 (1990)).
30

- En una realización específica que comprende un ácido nucleico que codifica un heteromultímero descrito en esta invención, el ácido nucleico puede administrarse *in vivo* para promover la expresión de su proteína codificada, construyéndolo como parte de un vector de expresión de ácido nucleico apropiada y administrándolo de modo que se vuelva intracelular, por ejemplo, mediante el uso de un vector retroviral (ver Patente EE. UU. No. 4.980.286), o
35 mediante inyección directa, o mediante el uso de bombardeo de micropartículas (por ejemplo, una pistola de genes; Biolistic, Dupont), o recubriendo con lípidos o receptores de la superficie celular o agentes transfectantes, o administrándolo en unión a un péptido similar a homeobox que se sabe que ingresa al núcleo (ver, por ejemplo, Joliot y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU.* 88: 1864-1868 (1991)), etc. Alternativamente, un ácido nucleico puede introducirse intracelularmente e incorporarse dentro del ADN de la célula huésped para la expresión, por
40 recombinación homóloga.

- También se proporcionan en esta invención composiciones farmacéuticas. Dichas composiciones comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización específica, el término "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno
45 federal o estatal o enumerado en la Farmacopea de EE. UU. u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales, y más particularmente en seres humanos. El término "vehículo" hace referencia a un diluyente, adyuvante, excipiente o medio con el cual se administra el agente terapéutico. Dichos vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, como agua y aceites, incluidos los de petróleo, origen animal, vegetal o sintético, como aceite de maní, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. El agua es un vehículo preferido cuando la composición
50 farmacéutica se administra por vía intravenosa. Las soluciones salinas y las soluciones acuosas de dextrosa y glicerol también pueden emplearse como vehículos líquidos, particularmente para soluciones inyectables. Excipientes farmacéuticamente aceptables también incluyen almidón, glucosa, lactosa, sucrosa, gelatina, malta, arroz, harina, yeso, gel de sílice, estearato sódico, monoestearato de glicerol, talco, cloruro sódico, leche desnatada en polvo, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. La composición, si se desea, también puede contener cantidades menores
55 de agentes humectantes o emulsionantes, o agentes de tamponamiento del pH. Estas composiciones pueden tomar la forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de administración sostenida y similares. La composición puede formularse como un supositorio, con aglutinantes y vehículos tradicionales, tales como triglicéridos. La formulación oral puede incluir vehículos estándares tales como grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina de sodio, celulosa, carbonato de
60 magnesio, etc. En "Remington's Pharmaceutical Sciences" de E. W. Martin se describen ejemplos de vehículos

farmacéuticos adecuados. Dichas composiciones contendrán una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto, preferentemente en forma purificada, junto con una cantidad adecuada de vehículo para proporcionar la forma para la administración adecuada al paciente. La formulación debe adecuarse al modo de administración.

- 5 En ciertas realizaciones, la composición que comprende el heteromultímero se formula según procedimientos rutinarios como una composición farmacéutica adaptada para administración intravenosa a seres humanos. Normalmente, las composiciones para administración intravenosa son soluciones en tampón acuoso isotónico estéril. Cuando sea necesario, la composición también puede incluir un agente solubilizante y un anestésico local como la lignocaína para aliviar el dolor en el sitio de la inyección. Generalmente, los ingredientes se suministran por separado
- 10 o se mezclan en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado seco o concentrado sin agua en un recipiente herméticamente cerrado, como una ampolla o una bolsita que indica la cantidad de agente activo. Cuando la composición se va a administrar por infusión, se puede dispensar con una botella de infusión que contiene agua o solución salina estéril de grado farmacéutico. Cuando la composición se administra por inyección, se puede proporcionar una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina para que los ingredientes se puedan mezclar
- 15 antes de la administración.

- En ciertas realizaciones, las composiciones descritas en esta invención se formulan como formas neutras o de sal. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen aquellas formadas con aniones tales como las derivadas de los ácidos clorhídrico, fosfórico, acético, oxálico, tartárico, etc., y aquellas formadas con cationes tales como las derivadas
- 20 de sodio, potasio, amonio, calcio, isopropilamina de hidróxido férrico, trietilamina, 2-etilamino etanol, histidina, procaína, etc.

- La cantidad de la composición descrita en esta invención que será efectiva en el tratamiento, inhibición y prevención de una enfermedad o trastorno asociado con la expresión y/o actividad aberrante de una proteína terapéutica puede determinarse mediante técnicas clínicas estándar. Además, es posible emplear ensayos in vitro opcionalmente para
- 25 ayudar a identificar intervalos de dosificación óptimos. La dosis exacta a ser empleada en la formulación también dependerá de la vía de administración y de la gravedad de la enfermedad o trastorno y se decidirá según el juicio del médico y de las circunstancias de cada paciente. Dosis efectivas son extrapoladas a partir de curvas de respuesta a la dosis derivada de sistemas de prueba en modelos animales o in vitro.

30

Procedimientos de Producción Recombinante y Sintética de Proteínas de Heteromultímeros:

- En ciertas realizaciones, los heteromultímeros se producen como moléculas recombinantes por secreción de levadura, un microorganismo tal como una bacteria o una línea celular humana o animal. En realizaciones, los polipéptidos se
- 35 secretan de las células huésped.

- Las realizaciones incluyen una célula, tal como una célula de levadura transformada para expresar una proteína de heteromultímero descrita en esta invención. Además de las células huésped transformadas, se proporcionan cultivos de esas células, preferiblemente un cultivo monoclonal (clónicamente homogéneo), o un cultivo derivado de un cultivo
- 40 monoclonal, en un medio nutritivo. Si el polipéptido se secreta, el medio contendrá el polipéptido, con las células o sin las células si se han filtrado o centrifugado. Se conocen y pueden usarse muchos sistemas de expresión, incluyendo bacterias (por ejemplo, *E. coli* y *Bacillus subtilis*), levaduras (por ejemplo, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis* y *Pichia pastoris*), hongos filamentosos (por ejemplo, *Aspergillus*), células vegetales, células animales y células de insectos.

45

- Un heteromultímero descrito en esta invención se produce de manera convencional, por ejemplo, a partir de una secuencia de codificación insertada en el cromosoma del huésped o en un plásmido libre. Las levaduras se transforman con una secuencia de codificación para la proteína deseada en cualquiera de las formas habituales, por ejemplo, electroporación. Los procedimientos para la transformación de levadura por electroporación se describen en
- 50 Becker y Guarente (1990) *Methods Enzymol.* 194, 182.

- Las células transformadas con éxito, es decir, las células que contienen una construcción de ADN de la presente invención, pueden identificarse mediante técnicas bien conocidas. Por ejemplo, las células resultantes de la introducción de una construcción de expresión pueden crecer para producir el polipéptido deseado. Las células se
- 55 pueden recoger y lisar y examinar su contenido de ADN en busca de la presencia del ADN utilizando un procedimiento como el descrito por Southern (1975) *J. Mol. Biol.* 98, 503 o Berent y col. (1985) *Biotech.* 3, 208. Alternativamente, la presencia de la proteína en el sobrenadante se puede detectar usando anticuerpos.

- Vectores útiles de plásmidos de levadura incluyen pRS403-406 y pRS413-416 y generalmente están disponibles en
- 60 Stratagene Cloning Systems, La Jolla, California, 92037, EE. UU. Los plásmidos pRS403, pRS404, pRS405 y pRS406

son plásmidos integradores de levadura (Ylps) e incorporan los marcadores seleccionables de levadura HIS3, 7RP1, LEU2 y URA3. Los plásmidos pRS413-416 son plásmidos de centrómero de levadura (Ycps).

Se ha desarrollado una variedad de procedimientos para unir operativamente el ADN a los vectores a través de extremos cohesivos complementarios. Por ejemplo, se pueden agregar trectos de homopolímeros complementarios al segmento de ADN para insertarlos en el ADN del vector. El vector y el segmento de ADN se unen a continuación mediante enlaces de hidrógeno entre las colas homopoliméricas complementarias para formar moléculas de ADN recombinante.

Los enlazadores sintéticos que contienen uno o más sitios de restricción proporcionan un procedimiento alternativo para unir el segmento de ADN a los vectores. El segmento de ADN, generado por la digestión de restricción de endonucleasas, se trata con la ADN polimerasa del bacteriófago T4 o la ADN polimerasa 1 de *E. coli*, enzimas que eliminan los extremos sobresalientes de cadena sencilla con sus actividades exonucleolíticas 3' 5' y rellenan los extremos 3' encastrados con sus actividades de polimerización.

La combinación de estas actividades, por lo tanto, genera segmentos de ADN de extremos romos. Los segmentos de extremos romos se incuban a continuación con un gran exceso molar de moléculas enlazadoras en presencia de una enzima que puede catalizar la ligadura de moléculas de ADN de extremos romos, como la ADN ligasa del bacteriófago T4. Por lo tanto, los productos de la reacción son segmentos de ADN que llevan secuencias de enlazadores poliméricos en sus extremos. A continuación, estos segmentos de ADN se cortan con la enzima de restricción apropiada y se unen a un vector de expresión que se ha cortado con una enzima que produce extremos compatibles con los del segmento de ADN.

Los enlazadores sintéticos que contienen una variedad de sitios de endonucleasa de restricción están disponibles comercialmente de varias fuentes, incluyendo International Biotechnologies Inc, New Haven, Connecticut, EE. UU.

Géneros ejemplares de levadura contemplados para ser útiles en la práctica de la presente invención como hospedadores para expresar la albúmina, proteínas de fusión son *Pichia* (anteriormente clasificada como *Hansenula*), *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Aspergillus*, *Candida*, *Torulopsis*, *Torulaspora*, *Schizosaccharomyces*, *Citeromyces*, *Pachysolen*, *Zygosaccharomyces*, *Debaromyces*, *Trichoderma*, *Cephalosporium*, *Humicola*, *Mucor*, *Neurospora*, *Yarrowia*, *Metschnikowia*, *Rhodosporidium*, *Leucosporidium*, *Botryosascus*, *Sporidiobolus*, *Endomycopsis*, y similares. Géneros preferidos son aquellos seleccionados de entre el grupo que consiste en *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Pichia* y *Torulaspora*. Ejemplos de *Saccharomyces* spp. son *S. cerevisiae*, *S. italicus* y *S. rouxii*.

Ejemplos de *Kluyveromyces* spp. son *K. fragilis*, *K. lactis* y *K. marxianus*. Una especie de *Torulaspora* adecuada es *T. delbrueckii*. Ejemplos de *Pichia* (*Hansenula*) spp. son *P. angusta* (anteriormente *H. polymorpha*), *P. anomala* (anteriormente *H. anomala*) y *P. pastoris*. Procedimientos para la transformación de *S. cerevisiae* se enseñan generalmente en EP 251 744, EP 258 067 y WO 90/01063.

Especies ejemplares preferidas de *Saccharomyces* incluyen *S. cerevisiae*, *S. italicus*, *S. diastaticus* y *Zygosaccharomyces rouxii*. Especies ejemplares preferidas de *Kluyveromyces* incluyen *K. fragilis* y *K. lactis*. Especies ejemplares preferidas de *Hansenula* incluyen *H. polymorpha* (ahora *Pichia angusta*), *H. anomala* (ahora *Pichia anomala*) y *Pichia capsulata*. Otras especies ejemplares preferidas de *Pichia* incluyen *P. pastoris*. Especies ejemplares preferidas de *Aspergillus* incluyen *A. niger* y *A. nidulans*. Especies ejemplares preferidas de *Yarrowia* incluyen *Y. lipolytica*. Muchas especies de levadura preferidas están disponibles en el ATCC. Por ejemplo, las siguientes especies de levadura preferidas están disponibles en ATCC y son útiles en la expresión de proteínas de fusión de albúmina: *Saccharomyces cerevisiae*, Hansen, cepa teleomorfa BY4743 mutante yap3 (número de acceso ATCC 4022731); *Saccharomyces cerevisiae* Hansen, cepa teleomorfa BY4743 hsp150 mutante (número de acceso ATCC 4021266); *Saccharomyces cerevisiae* Hansen, cepa teleomorfa BY4743 pmt1 mutante (número de acceso ATCC 4023792); *Saccharomyces cerevisiae* Hansen, teleomorfa (números de acceso ATCC 20626; 44773; 44774 y 62995); *Saccharomyces diastaticus* Andrews y Gilliland ex van der Walt, teleomorfa (número de acceso ATCC 62987); *Kluyveromyces lactis* (Dombrowski) van der Walt, teleomorfa (número de acceso ATCC 76492); *Pichia angusta* (Teunisson y col.) Kurtzman, teleomorfa depositada como *Hansenula polymorpha* de Morais et Maia, teleomorfa (número de acceso ATCC 26012); *Aspergillus niger* van Tieghem, anamorfa (número de acceso ATCC 9029); *Aspergillus niger* van Tieghem, anamorfa (número de acceso ATCC 16404); *Aspergillus nidulans* (Eidam) Winter, anamorfa (número de acceso ATCC 48756); y *Yarrowia lipolytica* (Wickerham y col.) van der Walt et von Arx, teleomorfa (número de acceso ATCC 201847).

Promotores adecuados para *S. cerevisiae* incluyen aquellos asociados con el gen PGK1, genes GAL1 o GAL10, CYC1,

PH05, TRP1, ADH1, ADH2, los genes para gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, hexoquinasa, piruvato descarboxilasa, fosfofructoquinasa, triosa fosfato isomerasa, fosfoglucosa isomerasa, glucoquinasa, feromona de factor de apareamiento alfa, [una feromona de factor de apareamiento], el promotor PRBI, el promotor GUT2, el promotor GPD1 y promotores híbridos que involucran híbridos de partes de regiones reguladoras 5' con partes de regiones reguladoras 5' de otros promotores o con sitios de activación aguas arriba (por ejemplo, el promotor de EP-A-258 067).

Promotores regulables convenientes para su uso en *Schizosaccharomyces pombe* son el promotor represible por tiamina del gen nmt como se describe por Maundrell (1990) J. Biol. Chem 265, 10857-10864 y el promotor del gen jbp1 represible por glucosa como se describe por Hoffman y Winston (1990) Genetics 124, 807-816.

Procedimientos para transformar *Pichia* para la expresión de genes extraños se enseñan, por ejemplo, en Cregg y col. (1993), y varias patentes de Phillips (por ejemplo, Patente EE. UU. No. 4.857.467) y kits de expresión de *Pichia* están disponibles comercialmente en Invitrogen BV, Leek, Países Bajos, e Invitrogen Corp., San Diego, California. Promotores adecuados incluyen AOX1 y AOX2. Gleeson y col. (1986) J. Gen. Microbiol 132, 3459-3465 incluyen información sobre vectores de *Hansenula* y transformación, siendo promotores adecuados MOX1 y FMD1; mientras que EP 361 991, Fleer y col. (1991) y otras publicaciones de Rhone-Poulenc Rorer enseñan cómo expresar proteínas extrañas en *Kluyveromyces* spp., siendo PGK1 un promotor adecuado.

La señal de terminación de la transcripción es preferiblemente la secuencia flanqueante 3' de un gen eucariota que contiene señales apropiadas para la terminación de la transcripción y la poliadenilación. Secuencias flanqueantes 3' adecuadas pueden ser, por ejemplo, las del gen naturalmente unido a la secuencia de control de expresión utilizada, es decir, pueden corresponder al promotor. Alternativamente, pueden ser diferentes, en cuyo caso se prefiere la señal de terminación del gen ADHI de *S. cerevisiae*.

En ciertas realizaciones, la proteína de heteromultímero deseada se expresa inicialmente con una secuencia líder de secreción, que puede ser cualquier líder efectivo en la levadura elegida. Líderes útiles en *S. cerevisiae* incluyen el del polipéptido alfa del factor de apareamiento (MF α -1) y los líderes híbridos de EP-A-387 319. Tales líderes (o señales) son cortados por la levadura antes de que la albúmina madura se libere en el medio circundante. Además, tales líderes incluyen los de *S. cerevisiae* invertasa (SUC2) descritos en JP 62-096086 (concedida como 911036516), fosfatasa ácida (PH05), la pre-secuencia de MF α -1, 0 glucanasa (BGL2) y toxina killer; *S. diastaticus* glucoamilasa II; *S. carlsbergensis* α -galactosidasa (MEL1); *K. lactis* toxina killer; y *Candida* glucoarilnase.

Se proporcionan vectores que contienen un polinucleótido que codifica una proteína heteromultimérica descrita en esta invención, células huésped y la producción de proteínas de heteromultímeros por técnicas sintéticas y recombinantes. El vector puede ser, por ejemplo, un vector de fago, plásmido, viral o retroviral. Vectores retrovirales pueden ser replicación competente o replicación defectuosa. En el último caso, la propagación viral generalmente se producirá solo en células huésped complementarias.

En ciertas realizaciones, los polinucleótidos que codifican las proteínas de heteromultímeros descritas en esta invención se unen a un vector que contiene un marcador seleccionable para propagación en un huésped. Generalmente, un vector plasmídico se introduce en un precipitado, como un precipitado de fosfato de calcio, o en un complejo con un lípido cargado. Si el vector es un virus, puede empaquetarse in vitro utilizando una línea celular de empaquetamiento apropiada y a continuación transducirse a células huésped.

En ciertas realizaciones, el inserto polinucleotídico está operativamente unido a un promotor apropiado, tal como el promotor fago lambda PL, los promotores *E. coli* lac, trp, phoA y rac, los promotores SV40 temprano y tardío y promotores de LTR retrovirales, por nombrar algunos. El experto en la materia conocerá otros promotores adecuados. Las construcciones de expresión contendrán además sitios para el inicio de la transcripción, la terminación y, en la región transcrita, un sitio de unión al ribosoma para traducción. La porción de codificación de las transcripciones expresadas por las construcciones incluirá preferiblemente un codón de inicio de traducción al principio y un codón de terminación (UAA, UGA o UAG) colocado apropiadamente en el extremo del polipéptido a traducir.

Como se indica, los vectores de expresión incluirán preferiblemente al menos un marcador seleccionable. Dichos marcadores incluyen dihidrofolato reductasa, G418, glutamina sintasa o resistencia a la neomicina para cultivo de células eucariotas, y genes de resistencia a la tetraciclina, kanamicina o ampicilina para el cultivo en *E. coli* y otras bacterias. Ejemplos representativos de huéspedes apropiados incluyen, pero no se limitan a, células bacterianas, tales como células de *E. coli*, *Streptomyces* y *Salmonella typhimurium*; células fúngicas, tales como células de levadura (p. ej., *Saccharomyces cerevisiae* o *Pichia pastoris* (número de acceso ATCC 201178)); células de insectos tales como células *Drosophila* S2 y *Spodoptera* Sf9; células animales tales como CHO, COS, NSO, 293 y células de melanoma

de Bowes; y células vegetales. Medios de cultivo apropiados y condiciones para las células huésped descritas anteriormente se conocen en la técnica.

Entre los vectores preferidos para usar en bacterias se incluyen pQE70, pQE60 y pQE-9, disponibles de QIAGEN, Inc.;
 5 vectores pBluescript, vectores Phagescript, pNH8A, pNH16a, pNH18A; pNH46A, disponibles de Stratagene Cloning Systems, Inc.; y ptrc99a, pKK223-3, pKK233-3, pDR540, pRIT5 disponibles de Pharmacia Biotech, Inc. Entre los vectores eucariotas preferidos están pWLNEO, pSV2CAT, pOG44, pXT1 y pSG disponibles de Stratagene; y pSVK3, pBPV, pMSG y pSVL disponibles en Pharmacia. Vectores de expresión preferidos para uso en sistemas de levadura incluyen, pero no se limitan a pYES2, pYD1, pTEF1/Zeo, pYES2/GS, pPICZ, pGAPZ, pGAPZalph, pPIC9, pPIC3.5,
 10 pHIL-D2, pHIL-S1, pPIC3.5K, pPIC9K y PAO815 (todos disponibles en Invitrogen, Carlsbad, CA). Otros vectores adecuados serán fácilmente evidentes para el experto en la materia.

En una realización, los polinucleótidos que codifican una proteína de heteromultímero descrita en esta invención se fusionan para señalar secuencias que dirigirán la localización de una proteína de la invención a compartimentos
 15 particulares de una célula procariota o eucariota y/o dirigirán la secreción de una proteína de la invención a partir de una célula procariota o eucariota. Por ejemplo, en *E. coli*, se puede desear dirigir la expresión de la proteína al espacio periplásmico. Ejemplos de secuencias señal o proteínas (o fragmentos de las mismas) a las que se fusionan las proteínas heteromultiméricas para dirigir la expresión del polipéptido al espacio periplásmico de las bacterias incluyen, pero no se limitan a, la secuencia de señal pelB, secuencia de señal de la proteína de unión a la maltosa (MBP), MBP,
 20 la secuencia de señal ompA, la secuencia de señal de la subunidad B de enterotoxina termolábil de *E. coli* y la secuencia de señal de fosfatasa alcalina. Varios vectores están disponibles comercialmente para la construcción de proteínas de fusión que dirigirán la localización de una proteína, como la serie de vectores pMAL (particularmente la serie pMAL-.rho) disponible de New England Biolabs. En una realización específica, las proteínas de fusión de albúmina de polinucleótidos de la invención pueden fusionarse a la secuencia de señal de pectato liasa pelB para
 25 aumentar la eficacia de la expresión y purificación de tales polipéptidos en bacterias Gram negativas. Ver, Patente EE.UU. Nos. 5.576.195 y 5.846.818.

Ejemplos de péptidos señal que se fusionan con una proteína heteromultimérica para dirigir su secreción en células de mamífero incluyen, pero no se limitan a, la secuencia de señal MPIF-1 (por ejemplo, los aminoácidos 1-21 de
 30 número de acceso GenBank AAB51134), la secuencia de señal de estaniocalcina (MLQNSAVLLLLVISASA) y una secuencia de señal de consenso (MPTWAWWLFLVLLLALWAPARG). Una secuencia de señal adecuada que puede usarse junto con sistemas de expresión basado en baculovirus es la secuencia de señal gp67 (p. ej., los aminoácidos 1-19 de número de acceso GenBank AAA72759).

Vectores que usan glutamina sintasa (GS) o DHFR como marcadores seleccionables pueden amplificarse en presencia de los fármacos metionina sulfoximina o metotrexato, respectivamente. Una ventaja de los vectores basados en glutamina sintasa es la disponibilidad de líneas celulares (por ejemplo, la línea celular de mieloma murino, NSO) que son negativas para la glutamina sintasa. Sistemas de expresión de glutamina sintasa también pueden funcionar en células que expresan glutamina sintasa (p. ej., células de ovario de hámster chino (CHO)) al proporcionar un
 40 inhibidor adicional para impedir el funcionamiento del gen endógeno. Un sistema de expresión de glutamina sintasa y componentes del mismo se detallan en publicaciones PCT: WO87/04462; WO86/05807; WO89/10036; WO89/10404; y WO91/06657. Además, vectores de expresión de glutamina sintasa se pueden obtener de Lonza Biologics, Inc. (Portsmouth, NH). La expresión y producción de anticuerpos monoclonales usando un sistema de expresión GS en células de mieloma murino se describe en Bebbington y col., *Bio/technology* 10: 169 (1992) y en Biblia y Robinson
 45 *Biotechnol. Prog.* 11:1(1995).

También se proporcionan células huésped que contienen construcciones de vectores descritas en esta invención, y adicionalmente células huésped que contienen secuencias de nucleótidos que están operativamente asociadas con una o más regiones de control heterólogas (por ejemplo, promotor y/o potenciador) usando procedimientos conocidos
 50 en la técnica. La célula huésped puede ser una célula eucariota superior, como una célula de mamífero (p. ej., una célula derivada de ser humano), o una célula eucariota inferior, como una célula de levadura, o la célula huésped puede ser una célula procariota, como una célula bacteriana. Se puede elegir una cepa huésped que modula la expresión de las secuencias de genes insertadas, o modifica y procesa el producto génico de la forma específica deseada. La expresión de ciertos promotores puede elevarse en presencia de ciertos inductores; por lo tanto, la
 55 expresión del polipéptido genéticamente modificado puede controlarse. Además, las diferentes células huésped tienen mecanismos característicos y específicos para el procesamiento y la modificación traduccional y postraduccional (por ejemplo, fosforilación, escisión) de proteínas. Se pueden seleccionar líneas celulares apropiadas para garantizar la modificación y el procesamiento deseados de la proteína extraña expresada.

60 La introducción de los ácidos nucleicos y las construcciones de ácido nucleico de la invención en la célula huésped

puede efectuarse mediante transfección con fosfato de calcio, transfección mediada por DEAE-dextrano, transfección mediada por lípidos catiónicos, electroporación, transducción, infección u otros procedimientos. Dichos procedimientos se describen en muchos manuales de laboratorio estándar, como Davis y col., Basic Methods In Molecular Biology (1986). Se contempla específicamente que los polipéptidos de la presente invención pueden expresarse de hecho por una célula huésped que carece de un vector recombinante.

Además de abarcar células huésped que contienen las construcciones de vectores discutidas en esta invención, la invención también abarca células huésped primarias, secundarias e inmortalizadas de origen vertebrado, particularmente origen mamífero, que han sido diseñadas para eliminar o reemplazar material genético endógeno (por ejemplo, la secuencia de codificación correspondiente a un polipéptido de carga se reemplaza con una proteína de heteromultímero correspondiente al polipéptido de carga), y/o para incluir material genético. El material genético asociado operativamente con el polinucleótido endógeno puede activar, alterar y/o amplificar polinucleótidos endógenos.

Además, procedimientos conocidos en la técnica pueden usarse para asociar operativamente polinucleótidos heterólogos (por ejemplo, polinucleótidos que codifican una proteína de albúmina, o un fragmento o variante de la misma) y/o regiones de control heterólogas (por ejemplo, promotor y/o potenciador) con secuencias de polinucleótidos endógenos que codifican una proteína terapéutica mediante recombinación homóloga (ver, por ejemplo, Pat. EE. UU. No. 5,641,670, publicada jun. 24, 1997; International Publication Number WO 96/29411; International Publication Number WO 94/12650; Koller y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:8932-8935 (1989); y Zijlstra y col., Nature 342:435-438 (1989)).

Proteínas de heteromultímeros descritas en esta invención pueden recuperarse y purificarse de cultivos celulares recombinantes por procedimientos bien conocidos que incluyen precipitación con sulfato de amonio o etanol, extracción con ácido, cromatografía de intercambio aniónico o catiónico, cromatografía con fosfocelulosa, cromatografía de interacción hidrófoba, cromatografía de afinidad, cromatografía de hidroxilapatita, cromatografía de interacción de carga hidrófoba y cromatografía de lectina. Más preferiblemente, se emplea cromatografía líquida de alta resolución ("HPLC") para la purificación.

En ciertas realizaciones, las proteínas de heteromultímeros de la invención se purifican usando cromatografía de intercambio aniónico que incluye, pero no se limita a, cromatografía sobre Q-sefarosa, DEAE sefarosa, poros HQ, poros DEAF, Toyopearl Q, Toyopearl QAE, Toyopearl DEAE, Resource/Source Q y columnas DEAE, Fractogel Q y DEAE.

En realizaciones específicas, las proteínas descritas en esta invención se purifican usando cromatografía de intercambio catiónico que incluye, sin limitación, SP-sefarosa, CM sefarosa, poros HS, poros CM, Toyopearl SP, Toyopearl CM, Resource/Source S y columnas CM, Fractogel S y CM y sus equivalentes y comparables.

Además, las proteínas de heteromultímeros descritas en esta invención pueden sintetizarse químicamente usando procedimientos conocidos en la técnica (por ejemplo, ver Creighton, 1983, Proteins: Structures and Molecular Principles, W.H. Freeman & Co., N.Y. y Hunkapiller y col., Nature, 310: 105-111 (1984)). Por ejemplo, un polipéptido correspondiente a un fragmento de un polipéptido puede sintetizarse mediante el uso de un sintetizador de péptidos. Además, si se desea, se pueden introducir aminoácidos no clásicos o análogos químicos de aminoácidos como una sustitución o adición en la secuencia de polipéptidos. Aminoácidos no clásicos incluyen, pero no se limitan a, los isómeros D de los aminoácidos comunes, ácido 2,4diaminobutírico, ácido alfa-amino isobutírico, ácido 4aminobutírico, Abu, ácido 2-aminobutírico, g-Abu, e-Ahx, ácido 6amino hexanoico, Aib, ácido 2-amino isobutírico, ácido 3-amino propiónico, ornitina, norleucina, norvalina, hidroxiprolina, sarcosina, citrulina, homocitrulina, ácido cisteico, t-butilglicina, t-butilalanina, fenilglicina, ciclohexilalanina, β -alanina, fluoro-aminoácidos, aminoácidos de diseño tales como β -metil aminoácidos, α -metil aminoácidos, $N\alpha$ -metil aminoácidos y análogos de aminoácidos en general. Además, el aminoácido puede ser D (dextrógiro) o L (levógiro).

Se proporcionan heteromultímeros que se modifican de manera diferencial durante o después de la traducción, por ejemplo, por glucosilación, acetilación, fosforilación, amidación, derivación por grupos protectores/bloqueadores conocidos, escisión proteolítica, unión a una molécula de anticuerpo u otro ligando celular, etc. Cualquiera de numerosas modificaciones químicas se puede llevar a cabo mediante técnicas conocidas, que incluyen, pero no se limitan a, escisión química específica por bromuro de cianógeno, tripsina, quimotripsina, papaína, proteasa V8, NaBH_4 ; acetilación, formilación, oxidación, reducción; síntesis metabólica en presencia de tunicamicina; etc.

Modificaciones postraduccionales adicionales incluidas en esta invención incluyen, por ejemplo, cadenas de carbohidratos unidas a N o unidas a O, procesamiento de extremos N-terminales o C-terminales), unión de fracciones

químicas a la cadena principal de aminoácidos, modificaciones químicas de cadenas de carbohidratos unidas a N o unidas a O, y adición o delección de un residuo de metionina N-terminal como resultado de la expresión de células huésped procariotas. Las proteínas heteromultiméricas se modifican con una etiqueta detectable, como una etiqueta enzimática, fluorescente, isotópica o de afinidad para permitir la detección y el aislamiento de la proteína.

5

Ejemplos de enzimas adecuadas incluyen peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, beta-galactosidasa o acetilcolinesterasa; ejemplos de complejos de grupos protésicos adecuados incluyen estreptavidina biotina y avidina/biotina; ejemplos de materiales fluorescentes adecuados incluyen umbeliferona, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilamina, fluoresceína, cloruro de dansilo o ficoeritrina; un ejemplo de un material
10 luminiscente incluye luminol; ejemplos de materiales bioluminiscentes incluyen luciferasa, luciferina y aequorina; y ejemplos de material radiactivo adecuado incluyen yodo, carbono, azufre, tritio, indio, tecnecio, talio, galio, paladio, molibdeno, xenón, flúor.

En realizaciones específicas, las proteínas heteromultiméricas o fragmentos o variantes de las mismas están unidos
15 a quelantes macrocíclicos que se asocian con iones de radiometales.

Como se mencionó, el heteromultímero descrito en esta invención se modifica mediante procedimientos naturales, tales como el procesamiento postraduccional, o mediante técnicas de modificación química que son bien conocidas en la materia. Se apreciará que el mismo tipo de modificación puede estar presente en el mismo grado o en diversos
20 grados en varios sitios en un polipéptido dado. Polipéptidos de la invención pueden ser ramificados, por ejemplo, debido a una ubiquitinación, y pueden ser cíclicos, con o sin ramificaciones. Polipéptidos cíclicos, ramificados y cíclicos ramificados pueden producirse como resultado de procedimientos naturales de postraducción o pueden obtenerse mediante procedimientos sintéticos. Modificaciones incluyen acetilación, acilación, ADP-ribosilación, amidación, unión covalente de flavina, unión covalente de una fracción hemo, unión covalente de un nucleótido o derivado de nucleótido,
25 unión covalente de un lípido o derivado de lípido, unión covalente de fosfatidilinositol, reticulación, ciclación, formación de puentes de disulfuro, desmetilación, formación de reticulaciones covalentes, formación de cisteína, formación de piroglutamato, formilación, gamma-carboxilación, glucosilación, formación de anclas de GPI, hidroxilación, yodación, metilación, miristilación, oxidación, pegilación, procesamiento proteolítico, fosforilación, prenilación, racemización, selenoilación, sulfatación, adición de aminoácidos a proteínas mediada por ARN de transferencia tal como arginilación
30 y ubiquitinación; (Ver, por ejemplo, PROTEINS--STRUCTURE AND MOLECULAR PROPERTIES, 2a Ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York (1993); POST-TRANSLATIONAL COVALENT MODIFICATION OF PROTEINS, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York, pgs. 1-12 (1983); Seifter y col., Meth. Enzymol. 182:626-646 (1990); Rattan y col., Ann. N.Y. Acad. Sci. 663:48-62 (1992)).

35 En ciertas realizaciones, proteínas heteromultiméricas también se pueden unir a soportes sólidos, que son particularmente útiles para inmunoensayos o purificación de polipéptidos que se unen por, que se unen a o se asocian con proteínas de fusión de albúmina de la invención. Dichos soportes sólidos incluyen, sin limitación, vidrio, celulosa, poliácridamida, nylon, poliestireno, cloruro de polivinilo o polipropileno.

40 En realizaciones donde la proteína heteromultimérica comprende solo el dominio VH de un anticuerpo, puede ser necesario y/o deseable coexpresar la proteína con el dominio VL del mismo anticuerpo, de modo que la proteína de fusión a albúmina VH y la proteína VL se asociarán (covalentemente o no covalentemente) después de la traducción.

En realizaciones donde la proteína heteromultimérica comprende solo el dominio VL de un anticuerpo, puede ser
45 necesario y/o deseable coexpresar la proteína de fusión con el dominio VH del mismo anticuerpo, de modo que la proteína de fusión a albúmina VL y la proteína VH se asociarán (covalentemente o no covalentemente) después de la traducción.

También se proporcionan en esta invención derivados químicamente modificados de las proteínas heteromultiméricas
50 que pueden proporcionar ventajas adicionales tales como mayor solubilidad, estabilidad y tiempo de circulación del polipéptido, o disminución de la inmunogenicidad (ver Pat. EE. UU. No. 4.179.337). Las fracciones químicas para la derivatización se pueden seleccionar entre polímeros solubles en agua como el polietilenglicol, copolímeros de etilenglicol/propilenglicol, carboximetilcelulosa, dextrano, alcohol polivinílico y similares. Las proteínas se pueden modificar en posiciones aleatorias dentro de la molécula, o en posiciones predeterminadas dentro de la molécula y
55 pueden incluir uno, dos, tres o más fracciones químicas unidas.

El polímero puede ser de cualquier peso molecular y puede ser ramificado o no ramificado. Para el polietilenglicol, el peso molecular preferido está entre aproximadamente 1 kDa y aproximadamente 100 kDa (el término "aproximadamente" indica que, en las preparaciones de polietilenglicol, unas moléculas pesarán más y otras menos
60 que el peso molecular declarado) para facilitar el manejo y fabricación. Se pueden utilizar otros tamaños, dependiendo

del perfil terapéutico deseado (por ejemplo, la duración deseada de la liberación continuada, los efectos, si los hubiera, sobre la actividad biológica, la facilidad de manejo, el grado o la falta de antigenicidad y otros efectos conocidos del polietilenglicol sobre una proteína terapéutica o análogo). Por ejemplo, el polietilenglicol puede tener un peso molecular promedio de aproximadamente 200, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 8500, 9000, 9500, 10.000, 10.500, 11.000, 11.500, 12.000, 12.500, 13.000, 13.500, 14.000, 14.500, 15.000, 105.500, 16.000, 16.500, 17.000, 17.500, 18.000, 18.500, 19.000, 19.500, 20.000, 25.000, 30.000, 35.000, 40.000, 45.000, 50.000, 55.000, 60.000, 65.000, 70.000, 75.000, 80.000, 85.000, 90.000, 95.000, o 100.000 kDa.

- La presencia y la cantidad de proteínas heteromultiméricas descritas en esta invención pueden determinarse usando
- 10 ELISA, un inmunoensayo bien conocido en la técnica. En un protocolo ELISA que sería útil para detectar/cuantificar heteromultímeros descritos en esta invención, comprende los pasos de recubrir una placa ELISA con un anticuerpo anti-albúmina sérica humana, bloquear la placa para evitar la unión no específica, lavar la placa ELISA, agregar un
- 15 solución que contiene la proteína descrita en esta invención (en una o más concentraciones diferentes), agregando un anticuerpo secundario específico de polipéptido anti-carga acoplado a un marcador detectable (como se describe en esta invención o conocido en la técnica), y detectando la presencia del anticuerpo secundario. En una versión alternativa de este protocolo, la placa ELISA podría estar recubierta con el anticuerpo específico anti-polipéptido de carga y el reactivo secundario marcado podría ser el anticuerpo específico anti-albúmina humana.

EJEMPLOS

20 Ejemplo 1: El procedimiento de División de Proteínas

- La asociación específica de proteína-proteína es impulsada por una fuerte complementariedad de superficie entre las parejas que interactúan y los cambios estructurales y termodinámicos que la acompañan. La complementariedad de
- 25 la superficie brinda la oportunidad de formar contactos que apoyan la creación de interacciones electrostáticas e hidrófobas favorables. Interacciones electrostáticas implican la formación de puentes salinos, enlaces de hidrógeno y las interacciones de dispersión generalizadas. La exclusión de solventes y la reorganización alrededor de grupos atómicos no polares en la interfaz y sus efectos entrópicos asociados juegan un papel en el componente hidrófobo de la termodinámica de unión. Residuos con geometrías optimizadas para la interacción hidrófoba entre sí formarán
- 30 contactos (es decir, contactos de apilamiento, pi-pi, catión-pi favorables para estabilizar una interfaz proteína-proteína). Efectos termodinámicos similares controlan procedimientos de plegamiento de proteínas de múltiples etapas que implican la preorganización de conjuntos estructurales secundarios y dominios terciarios, a lo que sigue su asociación para formar el estado cuaternario plegado de la proteína. Un mecanismo alternativo para el plegamiento y unión de proteínas implica un procedimiento de plegado y unión de proteínas acopladas que finalmente resulta en el estado
- 35 cuaternario de la proteína. Es razonable suponer que habría aspectos de ambos procedimientos en acción durante la formación de la estructura cuaternaria de una proteína compleja. En el contexto de alguna asociación proteína-proteína, los componentes proteicos individuales deben ser coexpresados o estar presentes en el mismo medio y cada uno de los componentes o monómeros se plegará de manera estable en su estado estructural final solo en asociación con su pareja obligada. (Fig. 6)

- 40 Como se describe en esta invención, la generación de una proteína dividida implica reconocer un sitio de segmentación en la proteína nativa, utilizando información de secuencia, estructura secundaria y pliegue que producirá al menos dos polipéptidos transportadores que forman eficientemente la estructura proteica cuasi-nativa mediante autoensamblaje para formar un heteromultímero juntos. Por ejemplo, estos polipéptidos transportadores de proteínas divididas se
- 45 autoensamblan selectivamente y forman el estado cuasi-nativo cuando se coexpresan. Mientras se genera un par de polipéptidos transportadores complementarios de proteína dividida, en cierto modo, el intento es emular una serie de complejos proteína-proteína obligados que se presentan de manera natural y que exhiben su funcionalidad como complejo mientras no son funcionales en su estado no complejo. Una implementación exitosa de la estrategia da como resultado polipéptidos que se autoensamblan selectivamente para formar heteromultímeros entre sí, son solubles
- 50 como entidades individuales y, por relevancia funcional, no perjudican el plegamiento, la unión y la actividad de otros componentes en el ambiente. La naturaleza intrínseca de los polipéptidos para reconstituirse entre sí tiene aplicaciones en el área de creación de entidades de fusión heteromultimérica a partir de moléculas de carga que no son eficientes para formar multímeros por sí mismas. En alguna realización, el papel funcional de los segmentos de proteína divididos es actuar como polipéptidos transportadores que impulsan la heteromultimerización y la localización espacial de las
- 55 múltiples moléculas de carga fusionadas a los polipéptidos transportadores.

- Los sitios de segmentación dentro de la albúmina sérica humana ideada en esta invención se diseñaron sobre la base de los siguientes criterios de decisión. (1) El sitio de segmentación debe residir en un lazo con SASA relativo alto y un
- 60 conteo limitado de contacto de residuos con el resto de la proteína. El objetivo era maximizar las posibilidades de encontrar lazos flexibles y accesibles que tengan menos probabilidades de contribuir a la estabilidad del núcleo de la

proteína y, por lo tanto, impactar la estabilidad de la estructura de albúmina cuasi-nativa ensamblada en relación con la albúmina sérica humana. (2) La interfaz debe ser rica en residuos de focos. Por 'foco' nos referimos a residuos individuales o grupales involucrados en redes de interacciones bien conectadas. Las interacciones podrían basarse en interacciones típicas observadas en proteínas tales como enlaces de hidrógeno, interacciones de residuos cargados como puentes salinos, contactos de van der Waals que muestran una fuerte complementariedad estructural y clusters de residuos hidrófobos. Eso es para maximizar la estabilidad de la interfaz e impedir que el complejo se disocie. (3) La interfaz debe ser lo más apolar, extensa e interdigitada posible. Nuevamente, eso fue para maximizar las posibilidades de que las dos cadenas existan como un complejo permanente y no se disocien en sus componentes individuales. (4) En una realización, nuestro objetivo era retener un enlace disulfuro natural presente en la albúmina de suero humano a través de las secciones segmentadas para conectar covalentemente las dos cadenas. El objetivo era aumentar aún más la estabilidad de la estructura heterodimerizante cuasi-nativa similar a proteína que se autoensambla a partir de los dos segmentos derivados después de la segmentación. Localizamos regiones de lazo en la estructura/secuencia de albúmina de suero humano que satisfacen los criterios de disulfuro descritos en esta invención, es decir, tienen un disulfuro muy cerca del sitio de segmentación en la región del lazo. Además de la ventaja obvia de la reticulación covalente de las dos cadenas, este disulfuro también podría servir como un sustituto para el lazo que se abre en la segmentación. (5) En una realización, diseñamos un enlace disulfuro a través de los dos segmentos mediante la introducción de mutaciones individuales de aminoácidos a cisteína en posiciones seleccionadas en cada uno de los dos segmentos derivados. (6) En una realización, diseñamos aminoácidos en la interfaz de los dos segmentos para aumentar o mejorar aún más los focos en la interfaz o mejorar la complementariedad estructural y fisicoquímica entre los dos segmentos en la estructura de albúmina cuasi-nativa ensamblada.

La Tabla 3 a continuación muestra los parámetros de la interfaz y las energías libres de asociación para andamios de AlbuCORE. El área de interfaz enterrada entre la estructura cuasi-nativa derivada del ensamblaje del primer y segundo segmento derivado de HSA puede calcularse utilizando un cálculo basado en estructura utilizando algoritmos conocidos en la técnica (por ejemplo, H. Edelsbrunner y P. Koehl. The weighted volume derivative of a space filling diagram. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 100, 2203-2208 (2003)). El área calculada se puede clasificar además en área de superficie polar y apolar. El área apolar es un indicador de cadenas laterales de aminoácidos hidrófobos enterrados en la interfaz. El $\Delta\Delta G_{\text{assoc}}$ se refiere a la diferencia de energía libre calculada entre el estado asociado y el estado no asociado de las estructuras de dos segmentos. La energía libre calculada teóricamente explica los enlaces de hidrógeno y otras interacciones electrostáticas, el contacto de van der Waals, los efectos de desolvatación y la complementariedad de la superficie entre las dos superficies del segmento de contacto. Los procedimientos para calcular la energía libre de asociación son conocidos en la técnica (por ejemplo, Simonson T, Archontis G, Karplus M. Free energy simulations come of age: protein-ligand recognition. Acc Chem Res. (2002) 35, 430-7)

Tabla 3: Parámetros de interfaz y energías libres de asociación para andamios AlbuCORE

Andamio	Área Enterrada de la Interfaz (Å ²)	Área de Carbono (apolar) (Å ²)	Contribución de Carbono (apolar) (%)	$\Delta\Delta G_{\text{assoc}}$ (kcal/mol)
AlbuCORE_1A	2892,0	1963,2	67,88	-39,13
AlbuCORE_2A	2282,4	1508,2	66,08	-41,11
AlbuCORE_3	3395,6	2298,3	67,68	-52,69
AlbuCORE_4	5550,6	3690,8	66,49	-180,99
AlbuCORE_6	3278,3	2149,2	65,56	-55,57
AlbuCORE_7	3925,9	2541,2	64,73	-75,20
AlbuCORE_9	4227,0	2709,1	64,09	-122,49
AlbuCORE_13	2982,1	1978,7	66,35	-71,80

La Figura 32 muestra el gráfico de contactos de residuos realizado por un subconjunto de residuos en la albúmina de suero humano derivada de su estructura 3-dimensional. Contactos de residuos pueden definirse por la interacción entre residuos o cierta interacción átomo-átomo dentro de residuos que se encuentran dentro de un intervalo de distancia especificado y son de cierta naturaleza fisicoquímica. Residuos o grupos de residuos con fuertes contactos de residuos pueden reconocerse como focos. Tal análisis de contacto de residuos también puede emplearse para determinar residuos de lazo (o regiones estructurales secundarias no estructuradas en la estructura de la proteína 3D), tales como los que hacen contacto limitado de residuos. La gráfica también muestra un área de superficie accesible al solvente (SASA) residual que puede calcularse usando algoritmos conocidos en la técnica (por ejemplo, H.

Edelsbrunner y P. Koehl. The weighted volume derivative of a space filling diagram. Proc. Natl. Acad. Sci. (EE. UU.) 100, 2203-2208 (2003)).

La Figura 33 muestra un gráfico de la naturaleza de los contactos e interacciones logradas por residuos en focos seleccionados en albúmina de suero humano. La Figura 34 es una representación gráfica de residuos en focos o clusters (parches) de residuos en focos en albúmina de suero humano.

Tabla 4. Nuevos sitios de segmentación en HSA (AlbuCORE) y la naturaleza del lazo donde se introdujo la segmentación. La columna "longitud del lazo" se refiere a la longitud (en residuos de aminoácidos) del lazo que conecta los dos elementos de estructura secundaria más cercanos, y la columna "distancia str seg" muestra la distancia entre los carbonos C α de los extremos N y C de esos mismos elementos de estructura secundaria (todas las hélices α en este caso). La interfaz S-S indica el enlace disulfuro en la interfaz de los segmentos derivados (polipéptidos transportadores).

Andamio	Segmentación/Delección	Interfaz S-S	longitud del lazo	distancia str seg
AlbuCORE_1A	segment@(339-340)	316.CYS 361.CYS	- 5 res	12,3 Å
AlbuCORE_2A	segment@(300-301)	ninguna	13 res	28,4 Å
AlbuCORE_3	segment@(364-365)	360.CYS 369.CYS	- 3 res	7,2 Å
AlbuCORE_4	segment@(441-442)	437.CYS 448.CYS	- 7 res	6,0 Å
AlbuCORE_6	eliminar(84)	75.CYS - 91.CYS	12 res	12,2 Å
AlbuCORE_7	segment@(171-172)	168.CYS 177.CYS	- 4 res	5,7 Å
AlbuCORE_9	segment@(281-282)	278.CYS 289.CYS	- 2 res	9,1 Å
AlbuCORE_13	segment@(114-115)	ninguna	14 res	36,4 Å

Ejemplo 2: Preparación de proteínas de heteromultímeros basadas en HA/albúmina

Se muestra un procedimiento para determinar el sitio de segmentación a lo largo de la secuencia y estructura de HSA que producirá cadenas de polipéptidos monoméricos que se pliegan de manera estable y se autoensamblan para formar una estructura cuaternaria cuasi-nativa de la proteína original. Uno de los requisitos críticos para dicha asociación estable es la formación de una gran área enterrada de complementariedad superficial en la interfaz entre las cadenas de polipéptidos. El pliegue nativo de la proteína original proporciona una indicación de la complementariedad natural de las regiones dentro de la proteína.

La Figura 2 muestra el área de superficie accesible al solvente enterrada en la interfaz de dos polipéptidos basados en albúmina que idealmente se pliegan en la estructura cuasi-nativa de HSA, cuando el punto de segmentación se mueve a lo largo de la secuencia de proteínas. La marca discontinua en la parte inferior indica las regiones estructurales secundarias helicoidales en la estructura de la proteína. El análisis indica que una gran área de superficie, del orden de aproximadamente 2000 Å² o mayor, está enterrada cuando la segmentación dividida se introduce en cualquier lugar entre los residuos 30 y 520, con algunas excepciones, conservando las interfaces hidrófobas. En alguna realización, el área superficial molecular calculada se emplea en lugar del área superficial accesible al solvente. En alguna realización, el área de superficie enterrada está en el intervalo de 2000 Å² a 6000 Å². Se observó una interfaz enterrada más grande para el ABH1 no covalente. Además, el análisis también reveló que algunas regiones de lazo están relativamente expuestas a la superficie. La albúmina tiene un número excepcionalmente grande de puentes disulfuro que contribuyen a la estabilidad de la estructura proteica nativa. La sección de la proteína cerca de los residuos 110, 190, 300, 390 y 500 proporciona sitios para la segmentación que no divide los residuos implicados en un enlace disulfuro a través de los dos polipéptidos transportadores. La segmentación en otras regiones daría como resultado heterodímeros con un enlace disulfuro de reticulación entre los dos pares de polipéptidos transportadores. La Figura 3 presenta una representación modelo de una de estas estructuras de albúmina cuasi-nativa derivada de la eliminación del lazo de los residuos 294 a 303 en la secuencia HSA. El área de superficie enterrada total para los dos polipéptidos basados en albúmina de SEQ ID No. 2, y SEQ ID No: 3 mostrados en esta invención es aproximadamente

5500 Å². Esto es considerablemente mayor que el promedio de 1910 - 3880 Å² observado en varias estructuras co-complejas heterodiméricas y homodiméricas de proteína-proteína [Bahadur R.P. & Zacharias M. (2008) Cell Mol Life Sci 65, 1059-1072]. Esto sugiere que existe una gran probabilidad de que los dos polipéptidos se asocien selectivamente entre sí si la ruta de plegamiento de los dos polipéptidos es bastante independiente entre sí.

5 En un aspecto de esta invención, la formación selectiva de una estructura cuasi-nativa estable con los dos polipéptidos (el par formado por SEQ ID No. 2 y SEQ ID No. 3 o el par transportador formado por SEQ ID No. 8 y SEQ ID No. 10) nos da la oportunidad de emplear estos polipéptidos para impulsar la formación de moléculas biespecíficas u otras moléculas multifuncionales después de fusionar las proteínas de carga apropiadas de interés para el extremo N o C de los polipéptidos basados en albúmina empleados como polipéptidos transportadores. Se pueden diseñar otros patrones de segmentación alternativos que dan como resultado un heterodímero de pares de polipéptidos transportadores. Las proteínas de carga fusionadas pueden ser dominios de unión a antígeno u otras cargas útiles como quimiotoxinas, radiotoxinas o citocinas (como se representa en la Figura 4). Los heterodímeros resultantes tienen muchas de las propiedades favorables intrínsecas a HSA, incluidas propiedades como la vida media y la estabilidad en el suero, características de transporte de penetrabilidad tisular y baja inmunogenicidad. Enlazadores tradicionales como (Gly₄Ser)_x pueden usarse para la fusión de la proteína de carga con el polipéptido transportador.

En otro aspecto de esta invención, cada uno de los polipéptidos transportadores basados en HSA se fusiona independientemente al extremo C de dos cadenas pesadas en una molécula de Fc biespecífica (como se representa en la Figura 5). El emparejamiento fuerte y selectivo de los dos polipéptidos transportadores (como SEQ ID No. 2 y SEQ ID No. 3) impulsa la heterodimerización selectiva del Fc y también contribuye a su estabilidad y otras propiedades farmacocinéticas valiosas.

La secuencia NP_000468.1 GI 4502027 de preproteína de albúmina sérica de ARNm de NM_000477.5, Consensus CDS (CCDS) ID 3555.1

SEQ ID No. 4: Residuo 1-24 (EFATMAVMAPRTLVLALLSGALALTQTWAG) es la región de secuencia de señal de exportación N-terminal que se escinde. Esta secuencia cumple el mismo papel que la secuencia de señal natural pero está optimizada para líneas celulares de mamíferos y CHO.

30 SEQ ID No. 1: gi|4502027|ref|NP_000468.1| preproteína de albúmina sérica [Homo sapiens] Entre paréntesis es la secuencia de exportación N-terminal que se escinde, lo que da como resultado albúmina sérica.

(EFATMAVMAPRTLVLALLSGALALTQTWAG) DAHKSEVAHFRKDLGEENFKA
LVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCCKSLHTLFGDK
LCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLLQHKDDNPNLPRLLVRPEVDVMCT
AFHDNEETFLKKYLYEIIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAAC
LLPKLDELRLDEGKASSAKQRLKCSLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFA
EVSKLVTDLTQVHTECCHGDLLECADRADLAKYICENQDSISSKLKECCEK
PLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYE
YARRHPDYSVVLRLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQ
NLIKQNCLEFELQGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKC
CKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFS
ALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATK
EQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAAASQAALGL

35 SEQ ID No 5: Secuencia CCDS de nucleótidos de albúmina de suero humano (1852 nt)

GAATTCGCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGCTGCTGCTGTCCGGA
GCTCTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGAGATGCACACAAGAGTGAGGTTGCTCAT
CGGTTTAAAGATTTGGGAGAAGAAAATTTCAAAGCCTTGGTGTTGATTGCCTTTGCT
CAGTATCTTCAGCAGTGTCCATTTGAAGATCATGTAAAATTAGTGAATGAAGTAACT
GAATTTGCAAAAACATGTGTTGCTGATGAGTCAGCTGAAAATTGTGACAAATCACTT
CATACCCTTTTTTGGAGACAAATTATGCACAGTTGCAACTCTTCGTGAAACCTATGGT
GAAATGGCTGACTGCTGTGCAAAACAAGAACCTGAGAGAAATGAATGCTTCTTGCAA
CACAAAGATGACAACCCAAACCTCCCCGATTGGTGAGACCAGAGGTTGATGTGATG
TGCACTGCTTTTCATGACAATGAAGAGACATTTTTTGAAAAATACTTATATGAAATT
GCCAGAAGACATCCTTACTTTTATGCCCCGGAACCTCCTTTTCTTTGCTAAAAGGTAT
AAAGCTGCTTTTACAGAATGTTGCCAAGCTGCTGATAAAGCTGCCTGCCTGTTGCCA
AAGCTCGATGAACTTCGGGATGAAGGGAAGGCTTCGTCTGCCAAACAGAGACTCAAG
TGTGCCAGTCTCCAAAAATTTGGAGAAAGAGCTTTCAAAGCATGGGCAGTAGCTCGC
CTGAGCCAGAGATTTCCCAAAGCTGAGTTTGCAGAAGTTTCCAAGTTAGTGACAGAT
CTTACCAAAGTCCACACGGAATGCTGCCATGGAGATCTGCTTGAATGTGCTGATGAC

AGGGCGGACCTTGCCAAGTATATCTGTGAAAATCAAGATTCGATCTCCAGTAAACTG
AAGGAATGCTGTGAAAAACCTCTGTTGGAAAAATCCCACTGCATTGCCGAAGTGGAA
AATGATGAGATGCCTGCTGACTTGCCCTCATTAGCTGCTGATTTTGTGAAAGTAAG
GATGTTTGCAAAAACCTATGCTGAGGCAAAGGATGTCTTCCTGGGCATGTTTTTGTAT
GAATATGCAAGAAGGCATCCTGATTACTCTGTCTGTGCTGCTGCTGAGACTTGCCAAG
ACATATGAAACCACTCTAGAGAAGTGCTGTGCCGCTGCAGATCCTCATGAATGCTAT
GCCAAAGTGTTTCGATGAATTTAAACCTCTTGTGGAAGAGCCTCAGAATTTAATCAAA
CAAAATTGTGAGCTTTTTGAGCAGCTTGGAGAGTACAAATTCAGAATGCGCTATTA
GTTTCGTTACACCAAGAAAGTACCCCAAGTGTCAACTCCAACCTCTTGTAGAGGTCTCA
AGAAACCTAGGAAAAGTGGGCAGCAAATGTTGTAAACATCCTGAAGCAAAAAGAATG
CCCTGTGCAGAAGACTATCTATCCGTGGTCCTGAACCAGTTATGTGTGTTGCATGAG
AAAACGCCAGTAAGTGACAGAGTCACCAAATGCTGCACAGAATCCTTGGTGAACAGG
CGACCATGCTTTTTAGCTCTGGAAGTCGATGAAACATACGTTCCCAAAGAGTTTAAT
GCTGAAACATTCACCTTCCATGCAGATATATGCACACTTCTGAGAAGGAGAGACAA
ATCAAGAAACAACTGCACTTGTTGAGCTCGTGAAACACAAGCCCAAGGCAACAAAA
GAGCAACTGAAAGCTGTTATGGATGATTTCGCAGCTTTTGTAGAGAAGTGCTGCAAG
GCTGACGATAAGGAGACCTGCTTTGCCGAGGAGGGTAAAAAACTTGTGCTGCAAGT
CAAGCTGCCTTAGGCTTATGA

La secuencia de proteínas y nucleótidos de polipéptidos basados en albúmina útiles como polipéptidos transportadores son los siguientes:

5

Heteromultimer 1 basado en albúmina:

Polipéptido transportador basado en albúmina 1-Ver 1: SEQ ID No. 2:

DAHKSEVAHFRKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADE
SAENCCKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPR
LVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQA
ADKAACLLPKLDELRLDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEF
AEVSKLVTDLTQVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLE
KSHCIAEV

10

Secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido transportador basado en albúmina 1-Ver 1: SEQ ID No. 6:

GATGCACACAAGAGTGAGGTTGCTCATCGGTTTAAAGATTTGGGAGAAGAAAATTTTC
 AAAGCCTTGGTGTGATTGCCTTTGCTCAGTATCTTCAGCAGTGTCCATTTGAAGAT
 CATGTAAAATTAGTGAATGAAGTAACTGAATTTGCAAAAACATGTGTTGCTGATGAG
 TCAGCTGAAAATTGTGACAAATCACTTCATACCCTTTTTGGAGACAAATTATGCACA
 GTTGCAACTCTTCGTGAAACCTATGGTGAAATGGCTGACTGCTGTGCAAAACAAGAA
 CCTGAGAGAAATGAATGCTTCTTGCAACACAAAGATGACAACCCAAACCTCCCCCGA
 TTGGTGAGACCAGAGGTTGATGTGATGTGCACTGCTTTTCATGACAATGAAGAGACA
 TTTTTGAAA**AAA**TACTTATATGAAATTGCCAGAAGACATCCTTACTTTTATGCCCCG
 GAACTCCTTTTCTTTGCTAAAAGGTATAAAGCTGCTTTTACAGAATGTTGCCAAGCT
 GCTGATAAAGCTGCCTGCCTGTTGCCAAAGCTCGATGAACTTCGGGATGAAGGGAAG
 GCTTCGTCTGCCAAACAGAGACTCAAGTGTGCCAGTCTCCAAAAATTTGGAGAAAGA
 GCTTTCAAAGCATGGGCAGTAGCTCGCCTGAGCCAGAGATTTCCCAAAGCTGAGTTT
 GCAGAAGTTTCCAAGTTAGTGACAGATCTTACCAAAGTCCACACGGAATGCTGCCAT
 GGAGATCTGCTTGAATGTGCTGATGACAGGGCGGACCTTGCCAAGTATATCTGTGAA
 AATCAAGATTGATCTCCAGTAACTGAAGGAATGCTGTGAAAAACCTCTGTTGGAA
 AAATCCCACTGCATTGCCGAAGTGTGA

Polipéptido transportador basado en albúmina 2-Ver1: SEQ ID No. 3:

SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLNLLRLAKTYETTTLEKC
 CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQ
 VSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT
 KCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVE
 5 LVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL

Secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido transportador basado en albúmina 2-Ver1: SEQ ID No. 7:

TCATTAGCTGCTGATTTTGTGAAAGTAAGGATGTTTGCAAAAACATGCTGAGGCA
 AAGGATGTCTTCCTGGGCATGTTTTTGTATGAATATGCAAGAAGGCATCCTGATTAC
 TCTGTCGTGCTGCTGCTGAGACTTGCCAAGACATATGAAACCACTCTAGAGAAGTGC
 TGTGCCGCTGCAGATCCTCATGAATGCTATGCCAAAGTGTTTCGATGAATTTAAACCT
 CTTGTGGAAGAGCCTCAGAATTTAATCAAACAAAATTGTGAGCTTTTTGAGCAGCTT
 GGAGAGTACAAATTCCAGAATGCGCTATTAGTTCGTTACACCAAGAAAGTACCCCAA
 GTGTCAACTCCAACCTCTGTAGAGGTCTCAAGAAACCTAGGAAAAGTGGGCAGCAAA

TGTTGTAAACATCCTGAAGCAAAAAGAATGCCCTGTGCAGAAGACTATCTATCCGTG
 GTCCTGAACCAGTTATGTGTGTTGCATGAGAAAACGCCAGTAAGTGACAGAGTCACC
 AAATGCTGCACAGAATCCTTGGTGAACAGGCGACCATGCTTTTCAGCTCTGGAAGTC
 GATGAAACATACGTT**CCC**AAAGAGTTTAATGCTGAAACATTACACCTTCCATGCAGAT
 ATATGCACACTTTCTGAGAAGGAGAGACAAATCAAGAAACAAACTGCACTTGTTGAG
 CTCGTGAAACACAAGCCCAAGGCAACAAAAGAGCAACTGAAAGCTGTTATGGATGAT
 TTCGCAGCTTTTGTAGAGAAGTGCTGCAAGGCTGACGATAAGGAGACCTGCTTTGCC
 GAGGAGGGTAAAAAACTTGTTGCTGCAAGTCAAGCTGCCTTAGGCTTATGA

Heteromultímero basado en albúmina 2:

5 Polipéptido transportador basado en albúmina 1-Ver 2: SEQ ID No. 8:

DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADE
 SAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPR
 LVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQA
 ADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEF
 AEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKY ICENQDS ISSKLKECCEKPLLE
 KSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVF LGMFLYEYARA

Secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido transportador basado en albúmina 1-Ver 2: SEQ ID No. 9:

10

GATGCACACAAGAGTGAGGTTGCTCATCGGTTTAAAGATTTGGGAGAAGAAAATTTTC
 AAAGCCTTGGTGTGATTGCCTTTGCTCAGTATCTTCAGCAGTGTCATTGGAAGAT
 CATGTAAAATTAGTGAATGAAGTAACTGAATTTGCAAAAACATGTGTTGCTGATGAG
 TCAGCTGAAAATTGTGACAAATCACTTCATACCCTTTTTGGAGACAAATTATGCACA
 GTTGCAACTCTTCGTGAAACCTATGGTGAAATGGCTGACTGCTGTGCAAAACAAGAA
 CCTGAGAGAAATGAATGCTTCTTGCAACACAAAGATGACAACCCAAACCTCCCCCGA
 TTGGTGAGACCAGAGGTTGATGTGATGTGCACTGCTTTTCATGACAATGAAGAGACA
 TTTTGTAAAAAATACTTATATGAAATTGCCAGAAGACATCCTTACTTTTATGCCCCG
 GAACTCCTTTTCTTTGCTAAAAGGTATAAAGCT**GCT**TTTACAGAATGTTGCCAAGCT
 GCTGATAAAGCTGCCTGCCTGTTGCCAAAGCTCGATGAACTTCGGGATGAAGGGAAG
 GCTTCGTCTGCCAAACAGAGACTCAAGTGTGCCAGTCTCCAAAAATTTGGAGAAAGA
 GCTTTCAAAGCATGGGCAGTAGCTCGCCTGAGCCAGAGATTTCCCAAAGCTGAGTTT
 GCAGAAGTTTCCAAGTTAGTGACAGATCTTACCAAAGTCCACACGGAATGCTGCCAT

GGAGATCTGCTTGAATGTGCTGATGACAGGGCGGACCTTGCCAAGTATATCTGTGAA
AATCAAGATTTCGATCTCCAGTAAACTGAAGGAATGCTGTGAAAAACCTCTGTTGGAA
AAATCCCCTGCAATTGCCGAAGTGGAAAATGATGAGATGCCTGCTGACTTGCCTTCA
TTAGCTGCTGATTTTGTGAAAGTAAGGATGTTTGCAAAAACCTATGCTGAGGCCAAAG
GATGTCTTCCTGGGCATGTTTTTGTATGAATATGCAAGAGCATGA

Polipéptido transportador basado en albúmina 2-Ver 2: SEQ ID No. 10:

SVVLLRLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQL
GEYKFQNALLLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSV
VLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHAD
ICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFA
EEGKKLVAASOAALGL

Secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido transportador basado en albúmina 2-Ver 2: SEQ ID No. 11:

TCTGTCGTGCTGCTGCTGAGACTTGCCAAGACATATGAAACCACTCTAGAGAAGTGCTGTGTGCCGCTGCAGATCCTCATGAATGCTATGCCAAAGTGTTTCGATGAATTTAAACCTCTTGTGGAAGAGCCTCAGAATTTAATCAAACAAAATTGTGAGCTTTTTGAGCAGCTTGGAGAGTACAAATTCCAGAATGCGCTATTAGTTCGTTACACCAAGAAAGTACCCCAAGTGTCAACTCCAACCTCTTGTAGAGGTCTCAAGAAACCTAGGAAAAGTGGGCAGCAAA**TGT**TGTAAACATCCTGAAGCAAAAAGAATGCCCTGTGCAGAAGACTATCTATCCGTGTCCCTGAACCAGTTATGTGTGTTGCATGAGAAAACGCCAGTAAGTGACAGAGTCACCAAAATGCTGCACAGAATCCTTGGTGAACAGGCGACCATGCTTTTCAGCTCTGGAAGTCGATGAAACATACGTTCCCAAAGAGTTTAATGCTGAAACATTACCTTCCATGCAGATATATGCACACTTTCTGAGAAGGAGAGACAAATCAAGAAACAACTGCACTTGTTGAGCTCGTGAAACACAAGCCCAAGGCAACAAAAGAGCAACTGAAAGCTGTTATGGATGATTTCGCAGCTTTTGTAGAGAAGTGCTGCAAGGCTGACGATAAGGAGACCTGCTTTGCCGAGGAGGGTAAAAAACTTGTTGCTGCAAGTCAAGCTGCCTTAGGCTTATGA

Generación y expresión de heteromultímeros basados en HA o HAA

Los genes que codifican los monómeros de polipéptidos transportadores basados en HA de longitud completa y HA se construyeron mediante síntesis génica usando codones optimizados para la expresión humana/de mamífero. Las construcciones se diseñaron a partir de Preproteína de Albúmina Sérica Humana de longitud completa conocida (GENEBANK: NP_000468.1), después de la exclusión de la secuencia de señal EFATMAVMAPRTLVLSSGALALTQTWAG. Los productos génicos finales se subclonaron en el vector de expresión de mamífero pTT5 (NRC-BRI, Canadá) (Durocher y col.). Se realizó producción de proteína recombinante de alto nivel y alto rendimiento por transfección transitoria de CHO-3E7 humano en suspensión. Ver *Tabla 3* para límites de construcción de los dos andamios descritos en esta invención: heteromultímero 1 basado en albúmina (ABH1) y heteromultímero 2 basado en albúmina (ABH2). El heteromultímero 2 basado en albúmina comprende un enlace

disulfuro entre los dos polipéptidos transportadores, mientras que el heteromultímero 1 basado en albúmina está formado completamente por interacciones no covalentes. Las Figuras 16A y 16B representan la estructura de la proteína y la representación simbólica de ABH1 y ABH2 respectivamente. Como demuestran las dos figuras, ambas construcciones ABH están compuestas por dos polipéptidos transportadores A y B, secuencias descritas en la *Tabla* 5. La Figura 6A proporciona un análisis de gel SDS-PAGE (no reductor) de las dos construcciones de heteromultímero (ABH1 y ABH2), después de la coexpresión (se muestran diferentes proporciones de transfección de ADN). HSA de longitud completa WT se muestra como control. Como se esperaba, ABH2 retiene el enlace disulfuro en SDS-PAGE no reductor, con un MW aproximadamente el doble que el ABH1 no unido por disulfuro. La Figura 6A también demuestra que la formación de heterodímeros en ABH2 depende de la relación de transfección de ADN, con 1: 1 produciendo el producto más heterodimérico. Finalmente, 6A demuestra que el fragmento A de ABH2, cuando se expresa como molécula independiente, es más susceptible a formar homodímeros y permanecer monomérico, un resultado también observado en la Figura 6B. La Figura 6B proporciona un análisis de gel nativo de las dos construcciones de heteromultímeros basadas en albúmina (ABH1 y ABH2), después de la coexpresión (nivel de ADN 1:1). HSA de longitud completa WT se muestra como control. ABH1 y ABH2 forman un complejo de masa esperada, comparable al WT HSA de longitud completa. Además, tras la expresión, ni los polipéptidos transportadores que forman ABH1 ni los que forman ABH2 se homodimerizan; más bien, preferiblemente forman un heterocomplejo estable. Ver la *Tabla* 5 a continuación para detalles.

Tabla 5: Construcciones de heteromultímeros basados en albúmina

Construcción	Límites del Segmento*	MW (KDa)
HA Natural	1:585 (SEQ ID NO: 1)	64,3
ABH1 (AlbuCORE 2)	1:293 (SEQ ID NO: 2)	32,2
	304:585 (SEQ ID NO: 3)	30,9
ABH2 (AlbuCORE 1)	1:337 (SEQ ID NO: 8)	37
	342:585 (SEQ ID NO: 10).	26,7

WT-HSA y los dos heteromultímeros basados en albúmina (ABH1 y ABH2) se expresaron en la línea celular CHO-3E7 cultivada en suspensión en medio FreeStyle F17 (Invitrogen) suplementado con plurónico al 0,1 % p/v y Glutamina 4 mM. El día de la transfección, la densidad celular debe ser de alrededor de 1.5-2 millones de células/ml y la viabilidad debe ser mayor que 97 %. La transfección se llevó a cabo como se describe en la solicitud de patente WO 2009/137911 usando una mezcla de ADN plasmídico hecho de plásmido pTTo-GFP al 5 % (proteína fluorescente verde para determinar la eficacia de la transfección, *Tabla* 4), 15 % plásmido pTT22-AKT, 21 % plásmidos HSA (10.63 % de cada uno), 68,37 % de ADN de esperma de salmón. Después de la transfección, el matraz de agitación que contenía células se colocó a continuación en un agitador orbital ajustado a 120 rpm en una incubadora humidificada con 5 % de CO₂ a 37°C. Veinticuatro horas después de la transfección, se añadieron 1 % p/v de TN1 y 0,5 mM de VPA (ácido valproico) a los cultivos. Los cultivos se transfirieron a continuación en un agitador orbital (120 rpm) colocado en una incubadora humidificada con 5 % de CO₂ ajustado a 32°C. A las 24-48 horas, las células positivas para GFP deben estar entre 30-60 % según lo determinado por citometría de flujo. Las células se recogieron 7 días después de la transfección y se centrifugaron a 4.000 rpm durante 20 minutos. El sobrenadante se esterilizó por filtración (se aclaró) usando un filtro de 0,45 µm (Millipore). El sobrenadante se almacenó a 4°C para almacenamiento a corto plazo y a -80°C para almacenamiento a largo plazo. Antes de la purificación, el sobrenadante congelado se descongeló a 37°C, se filtró nuevamente y se desgasificó a través de un filtro de membrana de 0,45 µm al vacío durante 5 - 10 minutos.

Tabla 6: Viabilidad celular en diferentes etapas de expresión para la construcción WT y ABH1.

Andamio HSA	% GFP 48 horas post-transfección	% viabilidad 48 horas post-transfección	% viabilidad 48 horas post-transfección
HSA Natural	67	94,6	72,3
ABH2	66,3	93,6	77,1

Purificación de ABH2, HSA y heteromultímeros.

Como se observa en la Figura 6A, la relación de transfección de ADN 1:1 de los dos polipéptidos transportadores

produjo el nivel más alto de producto ABH2 heterodimérico. Las células de CHO que coexpresan transitoriamente esta proporción de los dos polipéptidos se cultivaron como se describió anteriormente. La posterior purificación del heterodímero se realizó como sigue. La albúmina humana natural se transfectó en células de CHO y se purificó de manera similar a la ABH2.

5

La purificación se realizó por flujo por gravedad usando una columna QIAGEN-tip 500 de laboratorio empaquetada con una matriz de Blue Sepharose (GE Healthcare). La matriz de Blue Sepharose se equilibró con 20 ml de PBS a pH 7,2. La muestra se cargó a una velocidad de flujo de 5 ml/min y posteriormente se lavó con 20 ml de PBS. La proteína se eluyó con Na₂HPO₄ 0,1 M pH 7,2 suplementado con NaCl 1 M y se recogió en fracciones de 1 ml (20 ml en total).

- 10 Fracciones que contenían HSA (según el ensayo de proteínas de Bradford) se agruparon y se aplicaron en una columna de filtración en gel HiLoad 16/60 Superdex 200 de grado de preparación acoplada a un sistema AKTA Express (GE Healthcare) usando un flujo de 1 ml/ml. Se recogió proteína con una pureza > 85 %; las fracciones que contenían muestra pura se agruparon y se concentraron mediante centrifugación usando una membrana Amicon Ultra con un peso de corte de 10 000 MWCO. La Figura 6C muestra el análisis SDS-PAGE (no reductor) del heteromultímero ABH2
- 15 y WT HSA, ambos después de la etapa final de purificación. Ambas construcciones muestran el MW esperado. Los rendimientos de purificación fueron comparables a las HSA de longitud completa natural, a aproximadamente 10 mg/L. Este resultado también fue comparable a los 9 mg/L generados por el control V1087 realizado en células HEK. Los rendimientos se determinaron mediante nanodrop A280 medido después de Blue Sepharose y cromatografía de exclusión por tamaño.

20

Determinación de estabilidad de heteromultímeros basados en albúmina utilizando calorimetría de barrido diferencial (DSC)

Todos los experimentos con DSC se llevaron a cabo utilizando un instrumento GE o MicroCal VP-Capillary. Las proteínas se intercambiaron con tampón en PBS (pH 7,4) y se diluyeron a 0,3 a 0,7 mg/mL con 0,137 mL cargados en la célula de muestra y se midieron con una tasa de barrido de 1°C/min de 20 a 100°C. Se analizaron los datos utilizando el software Origin (GE Healthcare) substrayendo el fondo del tampón PBS. Consultar la Tabla 7 y la Figura 7 para conocer la temperatura de fusión resultante determinada.

25

- 30 Tabla 7: Temperatura de fusión para heteromultímeros basados en albúmina

Molécula	Masa medida (Da)	MW teórico (Da)	T _m °C
HSA Natural	66620	66470	75
ABH2	66100	65880	63
ABH1	No determinado	No determinado	60

Evaluación de la unión de FcRn de HSA y ABH2 utilizando la resonancia por plasmones superficiales

- 35 Como se ve en las Figuras 8A-B, cuando HSA y un heteromultímero basado en HSA se inmovilizan en la superficie de SPR, la afinidad hacia FcRn parece ser comparable entre el WT de longitud completa HSA y ABH2, lo que indica que la funcionalidad de unión a FcRn de la albúmina es retenida por el heteromultímero formado por el autoensamblaje de polipéptidos transportadores basados en albúmina. La siguiente Tabla 8 ilustra los datos de unión de FcRn. Los valores entre paréntesis se refieren a la desviación estándar.

40

Tabla 8: Ajuste cinético y de equilibrio de la unión de FcRn de HSA y ABH2 utilizando resonancia de plasmones superficiales

	K _a (1/Ms) Agrupado Ajustado	K _d (1/s) Agrupado Ajustado	K _D (M) Agrupado Ajustado	
HSA	5,3E+04 (7E+03)	7,0E-02 (2,0E-02)	1,4E-06 (6,0E-07)	Ajuste cinético
ABH2	5,0E+04 (4E+03)	4,2E-02 (8,0E-03)	8,0E-07 (2,0E-07)	Ajuste cinético
HSA			9,0E-07 (1,0E-07)	Ajuste de equilibrio
ABH2			9,0E-07 (1,0E-07)	Ajuste de equilibrio

Ejemplo 3: Generación y expresión de heteromultímeros basados en albúmina con mono y tetravalencia que comprenden fusiones bioactivas scFv anti-Her2/neu y anti-CD16.

- 5 El heteromultímero multivalente ABH2 se generó expresando sus polipéptidos transportadores monoméricos únicos, SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NO: 10, fusionados en uno o ambos extremos a los polipéptidos de carga que son antiHer2scFv (4D5) y/o anti-CD16 scFv (NM3E). El término 4D5, como se usa en esta invención, se refiere a las secuencias humanizadas del anticuerpo 4D5 y corresponde a la secuencia de aminoácidos de los dominios variables en el anticuerpo contra trastuzumab junto con la región enlazadora entre los dominios V1 y Vh en el formato molecular
- 10 scFv. Estos forman un conjunto de monómeros de construcción de base 8 basados en el polipéptido transportador 1 y monómeros de construcción de base 8 basados en el polipéptido transportador 2. Se combinaron diferentes combinaciones de estas construcciones de base tras la coexpresión para formar heteromultímeros que muestran todas las combinaciones de los dos polipéptidos de carga en cualquiera de las cuatro posiciones terminales de los dos polipéptidos transportadores, que van desde monovalentes a tetravalentes.
- 15 Como se muestra en la Figura 9, los polipéptidos de carga bioactivos se fusionaron con los polipéptidos transportadores de heteromultímeros a través de un enlazador GGSG, para el extremo N de un monómero y un enlazador 4GG más largo (GGG) para todos los demás extremos en el otro monómero.
- 20 La Tabla 9 ilustra las 16 construcciones de base (Construcción de base # 1-Construcción de base # 16) que se generaron fusionando los polipéptidos de carga 4D5 y NM3E en el extremo N o C del polipéptido transportador 1 (F1) o el polipéptido transportador 2 (F2). F1: corresponde a la SEQ ID 8 y F2 corresponde a la SEQ ID 10.

Tabla 9:

Fusiones Simples				
#	Fusión 1	Fusión 2	Fusión 3	SEQ ID NOS (nucleótido/aminoácido):
1	NM3E2	F1		95/96
2	F1	NM3E2		97/98
3	NM3E2	F2		99/100
4	F2	NM3E2		101/102
5	4D5	F1		103/104
6	F1	4D5		105/106
7	4D5	F2		107/108
8	F2	4D5		109/110
Fusiones Dobles				
9	NM3E2	F1	NM3E2	111/112
10	NM3E2	F2	NM3E2	113/114
11	4D5	F1	4D5	115/116
12	4D5	F2	4D5	117/118
13	NM3E2	F1	4D5	119/120
14	4D5	F1	NM3E2	121/122
15	NM3E2	F2	4D5	123/124
16	4D5	F2	NM3E2	125/126

25

- Se generaron construcciones multivalentes como se describe en el Ejemplo 2 usando el heteromultímero ABH2. Los productos génicos finales se subclonaron en el vector de expresión de mamífero pTT5 (NRC-BRI, Canadá) (Durocher y col.). Se realizó producción de proteína recombinante de alto nivel y alto rendimiento por transfección transitoria de
- 30 CHO-3E7 humano en suspensión. Detalles adicionales con respecto a la preparación y expresión de estas construcciones se encuentran en el Ejemplo 11.

La purificación se realizó mediante la aplicación del sobrenadante celular con proteína expresada a una columna QIAGEN-tip 500 empaquetada con matriz Blue Sepharose (GE Healthcare) acoplada a un sistema AKTA Express (GE Healthcare) utilizando un flujo de 1 ml/ml. La columna se equilibró con tampón de muestra compuesto por 20 ml de PBS pH 7,2, NaCl 300 mM. La muestra se cargó a una velocidad de flujo de 5 ml/min y posteriormente se lavó con tampón de muestra. La proteína se eluyó mediante la aplicación de un gradiente de NaCl que iba de 300 mM a 2000 mM. Fracciones que contenían HSA se agruparon y se aplicaron en una columna de filtración en gel HiLoad 16/60 Superdex 200 de grado de preparación acoplada a un sistema AKTA Express (GE Healthcare) usando un flujo de 1 ml/ml. Se recogió proteína con una pureza > 85 %; las fracciones que contenían muestra pura se agruparon y se concentraron mediante centrifugación usando una membrana Amicon Ultra con un peso de corte de 10 000 MWCO. Las Figuras 10A-10B muestran el análisis SDS-PAGE (no reductor) del heteromultímero ABH2 fusionado a diferentes polipéptidos de carga. La posición de esos polipéptidos en el heteromultímero con respecto a los polipéptidos transportadores se describe en la tabla 10 a continuación. Todas las construcciones mostraron el peso molecular esperado.

Tabla 10: Construcciones monovalentes, multivalentes y multiespecíficas que se generaron fusionando los polipéptidos de carga 4D5 y NM3 con el extremo N o C del polipéptido transportador 1 o el polipéptido transportador 2 de ABH2.

Variante	Polipéptido transportador de extremo N 1 (SEQ ID No: 8)	Polipéptido transportador de extremo C 1 (SEQ ID No: 8).	Polipéptido transportador de extremo N 2 (SEQ ID No: 10).	Polipéptido transportador de extremo C 2 (SEQ ID No: 10).	Valencia	Secuencias (polipéptido)
513	NM3E				monovalente	SEQ ID NO: 96
						SEQ ID NO: 10
514		NM3E			monovalente	SEQ ID No: 98
						SEQ ID NO: 10
515			NM3E		monovalente	SEQ ID NO: 8
						SEQ ID No: 100
516				NM3E	monovalente	SEQ ID NO: 8
						SEQ ID No: 102
517	4D5				monovalente	SEQ ID No: 104
						SEQ ID NO: 10
518		4D5			monovalente	SEQ ID No: 106
						SEQ ID NO: 10
519			4D5		monovalente	SEQ ID NO: 8
						SEQ ID No: 108
520				4D5	monovalente	SEQ ID NO: 8
						SEQ ID No: 110
521	NM3E		NM3E		bivalente	SEQ ID No: 96

Variante	Polipéptido transportador de extremo N 1 (SEQ ID No: 8)	Polipéptido transportador de extremo C 1 (SEQ ID No: 8).	Polipéptido transportador de extremo N 2 (SEQ ID No: 10).	Polipéptido transportador de extremo C 2 (SEQ ID No: 10).	Valencia	Secuencias (polipéptido)
						SEQ ID No: 100
522	NM3E			NM3E	bivalente	SEQ ID No: 96
						SEQ ID No: 102
523		NM3E	NM3E		bivalente	SEQ ID No: 98
						SEQ ID No: 100
524		NM3E		NM3E	bivalente	SEQ ID No: 98
						SEQ ID No: 102
525	4D5		4D5		bivalente	SEQ ID No: 104
						SEQ ID No: 108
526	4D5			4D5	bivalente	SEQ ID No: 104
						SEQ ID No: 110
527		4D5	4D5		bivalente	SEQ ID No: 106
						SEQ ID No: 108
528		4D5		4D5	bivalente	SEQ ID No: 106+108/110
529	NM3E	NM3E			bivalente	SEQ ID No: 112
						SEQ ID NO: 10
530			NM3E	NM3E	bivalente	SEQ ID NO: 8
						SEQ ID No: 114
531	4D5	4D5			bivalente	SEQ ID No: 116
						SEQ ID NO: 10
532			4D5	4D5	bivalente	SEQ ID NO: 8
						SEQ ID No: 118
540	4D5	4D5		4D5	trivalente	SEQ ID No: 116

Variante	Polipéptido transportador de extremo N 1 (SEQ ID No: 8)	Polipéptido transportador de extremo C 1 (SEQ ID No: 8).	Polipéptido transportador de extremo N 2 (SEQ ID No: 10).	Polipéptido transportador de extremo C 2 (SEQ ID No: 10).	Valencia	Secuencias (polipéptido)
						SEQ ID No: 110
542	4D5	4D5	4D5	4D5	tetravalente	SEQ ID No: 116
						SEQ ID No: 118
543	NM3E		4D5		biespecífico	SEQ ID No: 96
						SEQ ID No: 108
544	NM3E			4D5	biespecífico	SEQ ID No: 96
						SEQ ID No: 110
545		NM3E	4D5		biespecífico	SEQ ID No: 98
						SEQ ID No: 108
546		NM3E		4D5	biespecífico	SEQ ID No: 98
						SEQ ID No: 110
547	4D5		NM3E		biespecífico	SEQ ID No: 104
						SEQ ID No: 100
548		4D5	NM3E		biespecífico	SEQ ID No: 106
						SEQ ID No: 100
549	4D5			NM3E	biespecífico	SEQ ID No: 104
						SEQ ID No: 102
550		4D5		NM3E	biespecífico	SEQ ID No: 106
						SEQ ID No: 102
551	NM3E	4D5			biespecífico	SEQ ID No: 120
						SEQ ID NO: 10
552	4D5	NM3E			biespecífico	SEQ ID No: 122
						SEQ ID NO:

Variante	Polipéptido transportador de extremo N 1 (SEQ ID No: 8)	Polipéptido transportador de extremo C 1 (SEQ ID No: 8).	Polipéptido transportador de extremo N 2 (SEQ ID No: 10).	Polipéptido transportador de extremo C 2 (SEQ ID No: 10).	Valencia	Secuencias (polipéptido)
						10
553			NM3E	4D5	biespecífico	SEQ ID NO: 8
						SEQ ID No: 124
554			4D5	NM3E	biespecífico	SEQ ID NO: 8
						SEQ ID No: 126
593	4D5			NM3E	biespecífico	SEQ ID No: 128
594	NM3E			4D5	biespecífico	SEQ ID No: 130

Unión SPR de ABH2 monovalente fusionado a un único antiCD16scFv

- 5 El heteromultímero ABH2 purificado fusionado a un único antiCD16scFv al extremo N del polipéptido transportador SEQ ID 10 (construcción v515) se usó en un experimento de unión usando resonancia de plasmones superficiales (SPR). El CD16 soluble se inmovilizó covalentemente sobre una superficie CM5 y se capturó ABH2 fusionado con antiCD16scFv y se determinó la cinética de unión.
- 10 *Suministros de SPR.* Chips sensores de GLM, el kit de acoplamiento de amina Biorad ProteOn (EDC, sNHS y etanolamina) y tampones de acetato de sodio 10 mM se adquirieron de Bio-Rad Laboratories (Canada) Ltd. (Mississauga, ON). La proteína recombinante Her-2 se adquirió de eBioscience (San Diego, CA). El tampón HEPES, EDTA y NaCl se adquirieron de Sigma-Aldrich (Oakville, ON). La solución de Tween 20 al 10 % se adquirió de Teknova (Hollister, CA).
- 15 *Ensayos de biosensores de SPR.* Todos los ensayos de resonancia de plasmones superficiales se llevaron a cabo utilizando un instrumento BioRad ProteOn XPR36 (Bio-Rad Laboratories (Canada) Ltd. (Mississauga, ON)) con tampón corriente HBST (HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3,4 mM y Tween 20 al 0,05 % pH 7,4) a una temperatura de 25°C. La superficie de captura de CD 16 se generó usando un chip sensor de GLM activado por una dilución 1:5 de las soluciones estándar BioRad sNHS/EDC inyectadas durante 300 s a 30 µL/min en la dirección del analito (horizontal). Inmediatamente después de la activación, se inyectó una solución de 4,0 µg/mL de CD16 en NaOAc 10 mM pH 4,5 en la dirección del ligando (vertical) a una velocidad de flujo de 25 µL/min hasta que se inmovilizaron aproximadamente 3000 conjuntos de resonancia (RU). Los grupos activos restantes se apagaron mediante una inyección de 300 s de etanolamina 1 M a 30 µL/min en la dirección del analito, y esto también garantiza que se creen puntos intermedios activados por simulación para la referencia en blanco.

Se inyectó una serie de dilución triple de 500 nM de V515 sobre 3000 RU CD16aWT (L6) en comparación con el blanco (L5). Flujo de 50 uL/min durante 120s, con una fase de disociación de 240s. Las inyecciones se repitieron en tampón corriente estándar (DPBS/EDTA 3,4 mM/Tween20 al 0,05 %) y tampón corriente con 350 mM adicionales de NaCl. Los sensogramas se alinearon y se referenciaron dos veces utilizando la inyección en blanco del tampón y los puntos intermedios, y los sensogramas resultantes se analizaron con el software ProteOn Manager v3.0. Típicamente, los valores de K_D se determinaron a partir de isotermas de unión usando el modelo Equilibrium Fit. Para interacciones de alta afinidad con tasas de desaceleración lentas, los valores cinéticos y de afinidad se determinaron adicionalmente ajustando los sensoresgramas referenciados al modelo de unión Langmuir 1:1 usando R_{max} local, y las constantes de afinidad (K_D M) se derivaron de las constantes de tasa resultantes ($k_{off}^{-1}/k_{on}M^{-1}s^{-1}$). Todos los valores de K_D se informan como la media y la desviación estándar de tres corridas independientes.

Como se muestra en la Tabla 11, el heteromultímero ABH2 fusionado a un solo antiCD16scFv tiene actividad completa y se une a su diana con buena reproducibilidad y K_D similar al anti CD 16 scFv libre (NM3E).

40

Tabla 11: Datos de SPR para ABH2 monovalente fusionado a un único antiCD16scFv.

	Inyección #1			Inyección #2				
	ka	kd	KD	ka	kd	KD	KD (M) Med	KD DE
	1/Ms	1/s	M	1/Ms	1/s	M		
NM3E	5,37E+04	5,76E-03	1,07E-07	5,89E+04	6,03E-03	1,02E-07	1,05E-07	4,E-09
V515 Dic	6,11E+04	6,71E-03	1,10E-07					
V515 Ene	5,56E+04	7,30E-03	1,31E-07					

Ejemplo 4. Preparación de proteínas de heteromultímeros basado en HA o HAA donde las proteínas de carga comprenden uno o más dominios similares a EGF-A.

- 5 La secuencia de péptidos del dominio EGF-A en la proteína PCSK9 u otra secuencia de polipéptidos homóloga al dominio EGF-A, capaz de unirse específicamente al receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDL -R) se deriva por secuenciación o de una base de datos como GenBank. El ADNc para el polipéptido de carga que comprende el dominio similar a EGF-A se aísla por una variedad de medios que incluyen, pero no exclusivamente, bibliotecas de ADNc, por
- 10 RT-PCR y por PCR usando una serie de cebadores oligonucleotídicos sintéticos superpuestos, todos usando procedimientos estándar. En ciertos ejemplos, la proteína de carga está diseñada para mejorar la estabilidad, las características de unión a la diana u otras propiedades biofísicas o terapéuticamente relevantes. El polipéptido se emplea como proteína de carga en la creación de un heteromultímero con aplicación en el tratamiento de la hipercolesterolemia. La primera y segunda secuencia de polipéptidos de fusión monoméricos se derivan fusionando
- 15 la secuencia de la proteína de carga directamente o con un péptido enlazador intermedio al extremo N y/o al extremo C del polipéptido transportador basado en HA o HAA, tal como las SEQ ID No: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 8 o SEQ ID NO: 10. Esta secuencia de proteínas de fusión monoméricas se traduce inversamente a su secuencia de ADN correspondiente para ser introducida en un vector de expresión, secuencia optimizada para la expresión en una línea celular particular de interés. Las proteínas de fusión monoméricas primera y segunda se transfectan y coexpresan en
- 20 la línea celular de interés. En ciertos casos, la transfección está en relación 1:1 para los dos vectores. En algunos ejemplos, la relación se selecciona de entre 1,5:1, 2:1, 1:1,5, 1:2, etc.

Ejemplo 5. Preparación de proteínas heteromultiméricas basadas en HA o HAA donde las proteínas de carga son GLP-1 y/o Glucagón.

- 25 La secuencia de péptidos de GLP-1 u otra secuencia de polipéptidos homóloga a este péptido, capaz de unirse específicamente al receptor GLP-1 o actuar como un agonista de GLP-1 se deriva por secuenciación o de una base de datos como GenBank. Alternativamente, la secuencia de péptidos de Glucagón u otra secuencia de polipéptidos homóloga a este péptido, capaz de unirse específicamente al receptor de Glucagón o actuar como un agonista receptor
- 30 de Glucagón se deriva por secuenciación o de una base de datos como GenBank. El ADNc para el polipéptido de carga que comprende GLP-1 o Glucagón se aísla por una variedad de medios que incluyen, pero no exclusivamente, bibliotecas de ADNc, por RT-PCR y por PCR usando una serie de cebadores oligonucleotídicos sintéticos superpuestos, todos usando procedimientos estándar. En ciertos ejemplos, estos polipéptidos de carga basados en GLP-1 o Glucagón están diseñados para mejorar la estabilidad, las características de unión a la diana u otras
- 35 propiedades biofísicas o terapéuticamente relevantes. Estos polipéptidos basados en GLP-1 y Glucagón se emplean como una o más moléculas de carga en la creación de un heteromultímero con aplicación en el tratamiento de la diabetes tipo 2 u otra enfermedad relacionada con el metabolismo de la glucosa. La primera y segunda secuencia de polipéptidos de fusión monoméricos se derivan fusionando la secuencia de la proteína de carga directamente o con un péptido enlazador intermedio al extremo N y/o al extremo C del polipéptido transportador basado en HA o HAA, tal
- 40 como las SEQ ID No: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 8 o SEQ ID NO: 10. Las proteínas de fusión pueden ser monoespecíficas con polipéptidos similares a GLP-1 o Glucagón o ser biespecíficas (coagonistas) con los polipéptidos similares a GLP-1 y Glucagón. Esta secuencia de proteínas de fusión monoméricas se traduce inversamente a su secuencia de ADN correspondiente para ser introducida en un vector de expresión, secuencia optimizada para la expresión en una línea celular particular de interés. Las proteínas de fusión monoméricas primera y segunda se
- 45 transfectan y coexpresan en la línea celular de interés. En ciertos casos, la transfección está en relación 1:1 para los dos vectores. En algunos ejemplos, la relación se selecciona de entre 1,5:1, 2:1, 1:1,5, 1:2, etc.

Secuencia de la molécula de carga GLP-1

- 50 SEQ ID No: 12: HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRG

Secuencia de la molécula de carga Glucagón

SEQ ID NO: 13: HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNT

5

Ejemplo 6: Proteína anexina se repite como un andamio multivalente con detección de membrana

- La anexina se divide con una interfaz extensa para generar un andamio de heteromultímero multivalente que comprende dos polipéptidos transportadores. La anexina es una proteína de 346 residuos (PDB ID 1MCX). El heteromultímero que comprende dos polipéptidos transportadores basados en anexina dividida en la región entre el residuo 186 y 194 se muestra en la Figura 11. Cuando se coexpresa en solución, la gran área interfacial entre los dos polipéptidos transportadores conduce al autoensamblaje del heterodímero. El autoensamblaje de los dos conjuntos permite el diseño de una construcción multivalente con polipéptidos transportadores basados en el núcleo de anexina. Hay dos estructuras disponibles, de Cerdo y Humana. Las dos estructuras son superponibles con un rmsd de 0,6 Å. El siguiente tramo de secuencia se puede eliminar de la secuencia de anexina humana DRSEDF (residuos 160 a 165). El truncamiento no rompe ningún elemento secundario de la estructura y no implica la introducción o eliminación de ningún residuo de Prolina.

Secuencia de WT de anexina humana

20

SEQ ID NO: 14:

GS AVSPYPTFNPSSDVAALHKAIMVKG VDEATIIDILTKRNNAQRQ QIKAAYLQETGKPLD
ETLKKALTGHLEEVVLALLKTPAQFDADELRAAMKGLGTDEDTLIEILASRTNKEIRDINR
VYREELKRDLAKDITSDTSGDFRNALLSLAKGDRSEDFGVNEDLADSDARALYEAGERRK
GTDVNVFNTILTTRSYPQLRRVFQKYTKYSKHDMNKVLDLELKGDI EKCLTAIVKCATSKP
AFFAEKLHQAMKGVGTRHKALIRIMVSRSEIDMNDIKAFYQKMYGISLCQAILDETKGDY
EKILVALCGGN

25 Secuencia del polipéptido transportador basado en Anexina-1:

SEQ ID NO: 15:

SAVSPYPTFNPSSDVAALHKAIMVKG VDEATIIDILTKRNNAQRQ QIKAAYLQETGKPLDE
TLKKALTGHLEEVVLALLKTPAQFDADELRAAMKGLGTDEDTLIEILASRTNKEIRDINRV
YREELKRDLAKDITSDTSGDFRNALLSLAKG

Secuencia del polipéptido transportador basado en Anexina-2:

30

SEQ ID NO: 16:

GVNEDLADSDARALYEAGERRKGTDVNVFNTILTTRSYPQLRRVFQKYTKYSKHDMNKV
LDLELKGDI EKCLTAIVKCATSKPAFFAEKLHQAMKGVGTRHKALIRIMVSRSEIDMNDIK
AFYQKMYGISLCQAILDETKGDYEKILVALCGGN

- La Figura 12 muestra un gráfico del área de superficie accesible al solvente enterrada en la interfaz del polipéptido transportador basado en Anexina-1 (ABT-1) y el polipéptido transportador basado en anexina-2 (ABT-2). Una anexina dividida cerca de la posición del residuo 186 forma un heterodímero con aproximadamente 3200 Å² de área de superficie enterrada. Los polipéptidos transportadores tales como ABT-1 y ABT-2 basados en anexina pueden usarse para unir biomoléculas de carga utilizando los mismos procedimientos descritos anteriormente para polipéptidos transportadores basados en albúmina.

40 **Ejemplo 7: Transferrina como un andamio multivalente**

Basado en la gran cantidad de propiedades terapéuticamente relevantes de la transferrina, esta proteína se presenta como una molécula de andamio interesante para el diseño de fármacos de fusión de proteínas multivalentes después de la creación de una proteína autoensamblable y su división en partes componentes. La estructura de la transferrina se muestra en la Figura 13 basada en la estructura cristalina (1H76) disponible en el banco de datos de proteínas [Hall 5 DR y col. Acta Crystallogr D 2002, 58, 70-80]. La molécula de transferrina se compone de dos lóbulos estructuralmente similares, los lóbulos terminales N y C, conectados por un enlazador peptídico corto entre los residuos 333 y 342.

Un heterodímero está diseñado en base a la proteína transferrina, dicho heterodímero comprende un primer polipéptido transportador que involucra los residuos 1-333 de transferrina y un segundo polipéptido transportador 10 compuesto de residuos desde 342 hasta el extremo C de la secuencia original de transferrina. Cuando se coexpresan, los dos polipéptidos transportadores se pliegan independientemente y se emparejan para formar un andamio de cuasi-transferrina capaz de mantener sus propiedades terapéuticamente relevantes. Además, dicho andamio de Transferrina permite la producción de moléculas de fusión multivalentes, por ejemplo, una fusión GLP-1 multivalente con polipéptidos transportadores basados en la transferencia. Estas fusiones pueden ser similares a los polipéptidos de 15 fusión GLP-1 con polipéptidos transportadores basados en albúmina.

La Figura 13 muestra la estructura de la molécula de transferrina basada en la estructura PDB 1H76. Los dos polipéptidos transportadores monomerizantes derivados dividiendo la molécula de transferrina están codificados por 20 color como conjuntos gris claro y gris oscuro. Los sitios de fusión para las moléculas de carga se representan como esferas.

La Figura 14 muestra un gráfico del área de superficie accesible al solvente enterrada en la interfaz de dos polipéptidos basados en transferrina. Una transferrina dividida cerca de la posición del residuo 330, tal como los dos polipéptidos transportadores que se muestran a continuación, forma un heterodímero con aproximadamente 1800 Å² de área de 25 superficie enterrada.

Secuencia del polipéptido transportador basado en Transferrina-1:

SEQ ID NO: 17:

MRLAVGALLV CAVLGLCLAV PDKTVRWCAV SEHEATKCQS FRDHMKSVIP
SDGPSVACVK KASYLDCIRA IAANEADAVT LDAGLVYDAY LAPNNLKPVV
AEFYGSKEDP QTFYYAVAVV KKDSGFQMNQ LRGKKSCHTG LGRSAGWNIP
IGLLYCDLPE PRKPLEKAVA NFFSGSCAPC ADGTDFFQLC QLCPGCGCST
LNQYFGYSGA FKCLKDGAGD VAFVKHSTIF ENLANKADRD QYELLCLDNT
RKPVDEYKDC HLAQVPSHTV VARSMGGKED LIWELLNQAQ EHFGKDKSKE
FQLFSSPHGK DLLFKDSAHG FLKVPPRMDA KMYLGYEYVT AIRNLREG.

30

Secuencia del polipéptido transportador basado en Transferrina-2:

SEQ ID NO: 18:ECKPVKWCALSHHE RLKCEWSVN SVGKIECVSA ETTEDCIAKI
MNGEADAMSL DGGFVYIAGK CGLVPVLAEN YNKSDNCEDT PEAGYFAVAV
VKKSASDLTW DNLKGKKSCH TAVGRTAGWN IPMGLLYNKI NHCRFDEFFS
EGCAPGSKKD SSLCKLCMGS GLNLCEPNNK EGYGYTGAF RCLVEKGDVA
FVKHQVTPQN TGGKNPDPWA KNLNEKDYEL LCLDGTRKPV EEYANCHLAR
APNHAVVTRK DKEACVHKIL RQQQHLFGSN VTDCSGNFCL FRSETKDLLF
RDDTVCLAKL HDRNTYEKYL GEEYVKAVGN LRKCTSSLL EACTFRRP

35 Ejemplo 8: Diseño de proteínas de heteromultímeros basadas en HA o HAA estabilizadas con disulfuro

Polipéptidos transportadores basados en albúmina se diseñaron donde, en comparación con la albúmina, se mutaron

posiciones específicas a cisteína en cada uno de los polipéptidos transportadores para permitir la formación selectiva de un enlace disulfuro entre dos polipéptidos transportadores, lo que resultó en un heterodímero estable con una estructura monomérica de albúmina cuasi-nativa.

5 Los residuos para la introducción de cisteínas se seleccionaron teniendo en cuenta los siguientes factores:

a. Formar un enlace covalente entre los dos polipéptidos transportadores, aumentando así la estabilidad del heteromultímero y la forma monomérica cuasi-nativa resultante.

10 b. debe estar dentro de los límites específicos de CA-CA y CB-CB para formar un enlace disulfuro

c. no es probable que el entorno local compatible (que generalmente prefiere cadenas laterales hidrófobas más cortas en regiones parcialmente expuestas a solventes) interfiera con contactos polares existentes.

15 La mutagénesis se realizó mediante QuickChange, y la expresión y la purificación se realizaron como se presenta en los Ejemplos 1 y 2 anteriores.

La Tabla 12 a continuación identifica una serie de heteromultímeros basados en albúmina que comprenden cisteínas introducidas que fueron diseñadas. ABH3-8 fueron diseñadas en base al diseño ABH2, mientras que ABH9-12 se basaron en el diseño ABH1.

Tabla 12: Heteromultímeros basados en albúmina que comprenden cisteínas introducidas

Hetero-multímero	ID de Variante	Polipéptido transportador 1 (se indican los primeros y últimos aminoácidos del segmento de albúmina N-terminal)	Polipéptido transportador 2 (se indican los primeros y últimos aminoácidos del segmento de albúmina C-terminal)	Nuevo Cys en el polipéptido transportador 1	Nuevo CYS en el polipéptido transportador 2
ABH3	881	1-337 (SEQ ID NO 19)	342-585 (SEQ ID NO 20)	A217C	V343C
ABH4	882	1-337 (SEQ ID NO 21)	342-585 (SEQ ID NO 22)	L331C	A350C
ABH5	883	1-337 (SEQ ID NO 23)	342-585 (SEQ ID NO 24)	A217C	L346C
ABH6	884	1-337 (SEQ ID NO 25)	342-585 (SEQ ID NO 26)	W214C	V343C
ABH7	885	1-337 (SEQ ID NO 27)	342-585 (SEQ ID NO 28)	A335C	L346C
ABH8	886	1-337 (SEQ ID NO 29)	342-585 (SEQ ID NO 30)	L198C	V455C
ABH9	887	1-293 (SEQ ID NO 31)	304-585 (SEQ ID NO 32)	A217C	A335C
ABH10	888	1-293 (SEQ ID NO 33)	304-585 (SEQ ID NO 34)	A217C	L331C
ABH11	889	1-293 (SEQ ID NO 35)	304-585 (SEQ ID NO 36)	L198C	N458C
ABH12	890	1-293 (SEQ ID NO 37)	304-585 (SEQ ID NO 38)	A194C	V455C

25 Las variantes ABH3, ABH4, ABH5, ABH6, ABH7 y ABH8 se expresaron con una proporción de ADN 1:1 (Fragmento 1: Fragmento 2) en cultivos de CHO de 2 ml a pequeña escala. Un gel de expresión se muestra en Figura 35. WT-Albúmina (v225) junto con las variantes anteriores AlbuCORE 1 y AlbuCORE 2 también se expresaron como controles. Las variantes ABH3, ABH5 y ABH7 se expresaron de manera similar a ABH2, mientras que las variantes restantes

mostraron una expresión más baja y una posible codificación de disulfuro, notable por múltiples bandas en SDS PAGE no reductora, posiblemente debido a la presencia de las posiciones de disulfuro natural, así como a las mutaciones de cisteína introducidas. La recuperación de la expresión se puede lograr cambiando el sitio de corte (ver Ejemplo 9) o transfectando con diferentes proporciones de ADN. No hubo enlazadores presentes en los extremos de estas construcciones. Se espera que la introducción de las mutaciones de cisteína de enlace de disulfuro en variantes como ABH9, ABH10, ABH11 y ABH12 aborden este problema ya que carecen de una posición de enlace de disulfuro natural en la interfaz original.

Ejemplo 9: Diseño de proteínas heteromultiméricas basadas en HA o HAA basadas en diferentes sitios de segmentación

La Tabla 13 a continuación proporciona construcciones de heteromultímeros como se describe en esta invención que comprenden polipéptidos transportadores diseñados segmentando albúmina en varios sitios como se muestra en las Figuras 15A-15P y se enumeran en la Tabla 1. Diferente a las anteriores construcciones descritas en el Ejemplo 8 y las siguientes, todas las construcciones de AlbuCORE en el Ejemplo 9 se crearon con un enlazador GGGGS fusionado al extremo C del Fragmento 1 y al extremo N del fragmento 2. Esto se hizo por múltiples razones: 1) La presencia de un enlazador corto recrea una molécula de fusión típica y nos permite comprender la compatibilidad de los sitios de corte con la presencia de un enlazador. 2) La presencia de un enlazador también puede ayudar a estabilizar el entorno local que rodea el sitio de corte, incluido el blindaje de algunos parches hidrófobos expuestos. 3) La presencia de un enlazador reduce el número de variables en las fases posteriores, cuando una carga útil se fusiona con la molécula. Ver la Tabla 13 para resultados de expresión. La expresión se probó inicialmente en cultivos de CHO a pequeña escala con los dos fragmentos en cada variante de AlbuCORE realizada en diferentes combinaciones de proporciones. El gel en las Figuras 35A y B ilustra los resultados de expresión.

Tabla 13: Construcciones de heteromultímeros basados en albúmina basadas en diferentes segmentos de albúmina.

Heteromultímero	ID	Polipéptido transportador 1 (se indican los primeros y últimos aminoácidos del segmento de albúmina N-terminal)	Polipéptido transportador 2 (se indican los primeros y últimos aminoácidos del segmento de albúmina C-terminal)
ABH13	AlbuCORE_1A	1-339 (SEQ ID NO 39)	340-585 (SEQ ID NO 40)
ABH14	AlbuCORE_2A	1-300 (SEQ ID NO 41)	301-585 (SEQ ID NO 42)
ABH15	AlbuCORE_3	1-364 (SEQ ID NO 43)	365-585 (SEQ ID NO 44)
ABH16	AlbuCORE_4	1-441 (SEQ ID NO 45)	442-585 (SEQ ID NO 46)
ABH17	AlbuCORE_6	1-83 (SEQ ID NO 47)	85-585 (SEQ ID NO 48)
ABH18	AlbuCORE_7	1-171 (SEQ ID NO 49)	172-585 (SEQ ID NO 50)
ABH19	AlbuCORE_9	1-281 (SEQ ID NO 51)	282-585 (SEQ ID NO 52)
ABH20	AlbuCORE_13	1-114 (SEQ ID NO 53)	115-585 (SEQ ID NO 54)

La expresión de las variantes seleccionadas se realizó como se describe en el Ejemplo 2, mientras que la purificación se realizó como se describe en el Ejemplo 17. Las características de estas moléculas con respecto a los enlazadores utilizados, los enlaces cruzados de disulfuro y un resumen de los resultados de la expresión se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14: Resultados de la expresión de las variantes enumeradas en la Tabla 13:

SEQ ID (polipéptido)	Varia nte	Andamio	División/Dele ción	frag1:fr ag2	MW frag 1	MW frag 2	Interfaz S-S [enlace disulfur o entre los dos fragmen tos que forman AlbuCO RE]	Proporci ón óptima de ADN (Fragmen to 1:Fragme nto 2)	Expresión (comparado a AlbuCORE_ 1 y WTHSA clonado). Estimación aproximada basada en intensidad de banda (evaluada por software).	Enlazado res
39+40	1634	AlbuCORE _1A	nick(339-340)	1- 339:340- 585	39, 03 kDa	28, 10 kDa	316.CYS - 361.CYS	1:1	~ 30 % mejor que AlbuCORE _1 estrechament e relacionado. Fragmentos individuales aún visibles en proporciones de ADN 1:0 y 0:1. Cuando está en exceso, <u>no hay signos claros de multimerizaci ón.</u>	Fragment o 1: GGGGS (nuevo extremo C) Fragment o 2: GGGGS (nuevo extremo N)
41+42	1635	AlbuCORE _2A	nick(300-301)	1- 300:301- 585	34, 53 kDa	32, 59 kDa	N/A	Solo se probaron 1:1, 1:0 y 0:1	La expresión es ~30 % mejor que AlbuCORE _1 pero necesita gel nativo para la evaluación del complejo.	Fragment o 1: GGGGS (nuevo extremo C) Fragment o 2: GGGGS (nuevo extremo N)
43+44	1636	AlbuCORE _3	nick(364-365)	1- 364:365- 585	41, 78 kDa	25, 35 kDa	360.CYS - 369.CYS	1:2	~ 30-50 % mejor. El Fragmento 1 tiende a multimerizars e cuando está en acceso (proporción de ADN no optimizada)	Fragment o 1: GGGGS (nuevo extremo C) Fragment o 2: GGGGS (nuevo extremo N)

SEQ ID (polipéptido)	Varia nte	Andamio	División/Dele ción	frag1:fr ag2	MW frag 1	MW frag 2	Interfaz S-S [enlace disulfur o entre los dos fragmen tos que forman AlbuCO RE]	Proporci ón óptima de ADN (Fragmen to 1:Fragme nto 2)	Expresión (comparado a AlbuCORE_ 1 y WTHSA clonado). Estimación aproximada basada en intensidad de banda (evaluada por software).	Enlazado res
45+46	1637	AlbuCORE _4	nick(441-442)	1- 441:442- 585	50, 65 kDa	16, 48 kDa	437.CYS - 448.CYS	1:2	~ 30-50 % mejor. Fragma ento 1 en exceso cuando la proporción de ADN no está optimizada. No hay signos de multimerizaci ón.	Fragment o 1: GGGGS (nuevo extremo C) Fragment o 2: GGGGS (nuevo extremo N)
47+48	1638	AlbuCORE _6	Δ(84)	1-83:85- 585	9,6 8 kDa	57, 29 kDa	75.CYS - 91.CYS	Solo se probaron 1:1, 1:0 y 0:1	Banda de dímero débil presente, 1:1 aparece bien. El fragmento 2 tiende a multimerizars e cuando se expresa en una proporción de ADN 0:1. En 1:1 no hay signos claros de codificación ni multimeriza ción.	Fragment o 1: GGGGS (nuevo extremo C) Fragment o 2: GGGGS (nuevo extremo N)
49+50	1639	AlbuCORE _7	nick(171-172)	1- 171:172- 585	20, 18 kDa	46, 95 kDa	168.CYS -177.CY S	Expresión débil	50 % o más bajo.	Fragment o 1: GGGGS (nuevo extremo C) Fragment o 2: GGGGS (nuevo extremo N)

SEQ ID (polipéptido)	Varian te	Andamio	División/Dele ción	frag1:fr ag2	MW frag 1	MW frag 2	Interfaz S-S [enlace disulfur o entre los dos fragmen tos que forman AlbuCO RE]	Proporci ón óptima de ADN (Fragmen to 1:Fragme nto 2)	Expresión (comparado a AlbuCORE_ 1 y WTHSA clonado). Estimación aproximada basada en intensidad de banda (evaluada por software).	Enlazado res
51+52	1640	AlbuCORE _9	nick(281-282)	1- 281:282- 585	32, 43 kDa	34, 70 kDa	278.CYS - 289.CYS	2:1	~ 30-50 % mejor. El Fragmento 1 tiende a multimerizars e cuando está en acceso (proporción de ADN no optimizada) Resultados poco claros para el carril 0:1.	Fragment o 1: GGG GS (nuevo extremo C) Fragment o 2: GGGGS (nuevo extremo N)
53+54	1641	AlbuCORE _13	nick(114-115)	1- 114:115 -585	13, 31 kDa	53, 82 kDa	N/A	Expresión débil	50 % o más bajo.	Fragment o 1: GGGGS (nuevo extremo C) Fragment o 2: GGGGS (nuevo extremo N)
Este es ABH2	221	AlbuCORE _1 (CONTRO L)	nick(338-341)	1- 337:342 -585	38, 48 kDa	27, 51 kDa	316.CYS - 361.CYS		La expresión débil del Fragmento 1 y el Fragmento 2 sigue siendo visible en 1:0 y 0:1. Los fragmentos individuales muestran signos de agregación, probablemen te debido a la codificación de disulfuro.	Fragment o 1: GGGGS (nuevo extremo C) Fragment o 2: GGGGS (nuevo extremo N)

SEQ ID (polipéptido)	Variante	Andamio	División/Delección	frag1:frag2	MW frag 1	MW frag 2	Interfaz S-S [enlace disulfuro entre los dos fragmentos que forman AlbuCORE]	Proporción óptima de ADN (Fragmento 1:Fragmento 2)	Expresión (comparado a AlbuCORE_1 y WTHSA clonado). Estimación aproximada basada en intensidad de banda (evaluada por software).	Enlazados
									En espera de reducir SDS-PAGE para confirmar.	

Ejemplo 10: Múltiples proteínas de carga

- 5 Las proteínas de heteromultímeros descritas en esta invención (por ejemplo, que contienen un polipéptido de carga (o fragmento o variante del mismo) fusionadas al segmento transportador de albúmina o variante del mismo) pueden fusionarse adicionalmente a otras proteínas para generar "proteínas de multifusión". Estas proteínas de multifusión se pueden usar para una variedad de aplicaciones. Por ejemplo, la fusión de las proteínas descritas en esta invención a dominios IgG con etiqueta His y la proteína de unión a maltosa facilita la purificación. (Ver, por ejemplo, EP A 394.827;
- 10 Traunecker y col., Nature 331: 84-86 (1988)). Señales de localización nuclear fusionadas a los polipéptidos pueden dirigir la proteína a una localización subcelular específica. Además, la fusión de secuencias de proteínas adicionales a proteínas descritas en esta invención puede aumentar aún más la solubilidad y/o la estabilidad del heteromultímero. Las proteínas de heteromultímeros descritas anteriormente pueden prepararse usando o modificando rutinariamente procedimientos conocidos en la técnica y/o modificando el siguiente protocolo, que describe la fusión de un polipéptido
- 15 a una molécula de IgG.

Brevemente, la porción Fc humana de la molécula de IgG puede amplificarse por PCR, usando cebadores que abarcan los extremos 5' y 3' de la secuencia que se describe a continuación. Estos cebadores también deberían tener sitios de enzimas de restricción convenientes que faciliten la clonación en un vector de expresión, preferiblemente un vector de

20 expresión de mamífero o levadura.

Por ejemplo, si se usa pC4 (número de acceso ATCC 209646), la porción Fc humana se puede ligar al sitio de clonación BamHI. Téngase en cuenta que el sitio 3' BamHI debe ser destruido. A continuación, el vector que contiene la porción Fc humana se vuelve a restringir con BamHI, linealizando el vector, y un polinucleótido que codifica una

25 proteína heteromultimérica descrita en esta invención (generado y aislado usando procedimientos conocidos en la técnica), se liga en este sitio BamHI. Téngase en cuenta que el polinucleótido que codifica la proteína de fusión de la invención se clona sin un codón de parada; de lo contrario, no se producirá una proteína de fusión que contenga Fc.

Si la secuencia de señal de origen natural se usa para producir la proteína heteromultimérica descrita en esta invención,

30 pC4 no necesita un péptido de segunda señal. Alternativamente, si no se usa la secuencia de señal de origen natural, el vector puede modificarse para incluir una secuencia de señal heteróloga. (Ver, por ejemplo, Publicación Internacional No. WO 96/34891.)

Ejemplo 11. Preparación de polipéptidos basados en albúmina cargados con carga mono-, a tetravalente, mono-específicos, anti-Her2; polipéptidos basados en albúmina cargados con carga bivalente, bi-específicos anti-Her2 x Her3; y varios controles.

35

Se prepararon varios polipéptidos transportadores basados en albúmina cargados con carga como se describe en este ejemplo. Los scFv anti-HER2 descritos en la Tabla 8 del Ejemplo 3 se prepararon como sigue. Brevemente, ABH2 se cargó con scFv anti-Her2 en varias configuraciones cis y trans según los procedimientos descritos en esta invención. El polipéptido mono-específico final varió de mono a tetravalente. Detalles de las secuencias de aminoácidos y ácidos nucleicos de los polipéptidos componentes también se muestran en la Tabla 8. De manera similar, ABH2 también se cargó con scFvs anti-Her2 y anti-Her3 en configuraciones cis y trans, produciendo moléculas bivalentes bi-específicas. Como controles utilizados en varios ejemplos, también se produjeron V1087, scFvs simples, Fcs de un brazo y Fcs bivalentes.

- 10 *ABH2 cargado con anti-Her2 4D5 scFv* Las diferentes configuraciones posibles de ABH2 cargado anti-Her2 se representan esquemáticamente en la Figura 17. Como muestra esta figura, se prepararon numerosas variaciones cis y trans dependiendo de si el scFv está unido a los extremos N o C de cualquiera de los fragmentos A o B de ABH2. Se diseñó un enlazador GGSG corto en el extremo N natural del fragmento 1 de ABH2 y se diseñó un enlazador GG₄ más largo (GGS) en el extremo C del fragmento 1 de ABH2 y los extremos N y C del fragmento 2 de ABH2.
- 15 productos génicos finales se subclonaron en el vector de expresión de mamífero pTT5 (NRC-BRI, Canadá) (Durocher y col). Se realizó producción de proteína recombinante de alto nivel y alto rendimiento por transfección transitoria de CHO-3E7 humano en suspensión. La purificación se realizó mediante la aplicación del sobrenadante celular con proteína expresada a una columna QIAGEN-tip 500 empaquetada con matriz Blue Sepharose (GE Healthcare) acoplada a un sistema AKTA Express (GE Healthcare) utilizando un flujo de 1 ml/ml. La columna se equilibró con tampón de muestra compuesto por 20 ml de PBS pH 7,2, NaCl 300 mM. La muestra se cargó a una velocidad de flujo de 5 ml/min y posteriormente se lavó con tampón de muestra. La proteína se eluyó mediante la aplicación de un gradiente de NaCl que iba de 300 mM a 2000 mM. Fracciones que contenían HSA (según el ensayo de proteínas de Bradford) se agruparon y se aplicaron en una columna de filtración en gel HiLoad 16/60 Superdex 200 de grado de preparación acoplada a un sistema AKTA Express (GE Healthcare) usando un flujo de 1 ml/ml. Se recogió proteína
- 20 con una pureza > 85 %; las fracciones que contenían muestra pura se agruparon y se concentraron mediante centrifugación usando una membrana Amicon Ultra con un peso de corte de 10 000 MWCO. Las Figuras 10A-10B muestran el análisis SDS-PAGE (no reductor) del heteromultímero ABH2 fusionado a diferentes polipéptidos de carga. La posición de esos polipéptidos en el heteromultímero con respecto a los polipéptidos transportadores se describe en la Tabla 8 y en la Figura 17. Todas las construcciones mostraron el peso molecular esperado. El ABH2 monovalente fusionado a una fusión scFv 4D5 anti-Her2 se ejemplifica con las variantes 517, 518, 519, 520 como se describe en la Tabla 8. Las fusiones ABH2 bivalente y trivalente fusionadas a dos o tres fusiones scFv 4D5 anti-Her2 se ejemplifican con las variantes 525, 526, 527, 528, 531, 532, 540 como se describe en la Tabla 8. Todas estas variantes se produjeron por coexpresión de los dos fragmentos de Albúmina como se describe en el siguiente párrafo. Finalmente, al unir scFv anti-Her2 a los cuatro extremos posibles se formó la proteína de fusión tetravalente, denominada variante
- 35 542.

ABH2 cargado con anti-Her2 x anti-Her3 scFvs (variantes 1377, 1378 y 1090).

Se prepararon diferentes versiones de heteromultímeros basados en albúmina fusionados con anti-HER2 y anti-HER3.

- 40 Las cargas útiles anti-HER2 y anti-HER3 que se usaron apuntan a los mismos receptores que MM-111, siendo la principal diferencia la carga útil anti-HER2, que era la carga útil B1D2 no neutralizante utilizada en MM-111 o la carga útil 4D5 neutralizante.

- El Fragmento 1 AlbuCORE_1 (ABH2) se fusionó con anti-HER3 en el extremo N a través de un enlazador GGGS y se unió en complejo con el fragmento 2 fusionado con antiHER2 (4D5) a través de un enlazador (GGSG)₄GG colocado en el extremo N del fragmento 2 (produciendo la variante 1378, con cargas útiles en trans) o el extremo C del fragmento 2 (produciendo v1377, con cargas útiles en cis). Se formó un tercer tipo de molécula AlbuCORE_1 (ABH2) combinando el fragmento 1 fusionado con antiHER3 en su extremo N a través de un enlazador GGGS y el fragmento 2 fusionado con antiHER2 (B1D2) en su extremo C a través de un enlazador GGGS (número de variante 1090). Esta molécula
- 45 tiene cargas útiles en cis y es casi idéntica a MM-111. Las principales diferencias entre el polipéptido MM-111 y el polipéptido basado en ABH2 son que 1) los enlazadores utilizados en el polipéptido MM-111 eran más hidrófobos, mientras que los enlazadores utilizados en los polipéptidos basados en ABH2 eran polyGLY (S) y 2) Los polipéptidos basados en ABH2 carecen de la mutación C34S/N504Q introducida originalmente por Merrimack.
- 50

MM-111 y derivados (variante 1087, 1088 y 1089)

La molécula MM-111 es una proteína de fusión a polipéptido único de dos scFvs, anti-Her2 (B1D2) y anti-Her3 (H3), unidas a extremos C y N, respectivamente, de una proteína de albúmina sérica humana modificada, y es producida por Merrimack. La molécula resultante es biespecífica y bivalente. Como control, se construyó una variante de la

60 molécula MM-111 en la que la carga útil anti-Her3 (H3) se fusionó con el extremo N de la albúmina mediante un

enlazador AAS corto, mientras que el anti-Her2 (B1D2) se fusionó con el extremo C a través de un enlazador AAAL para crear la variante de control de referencia 1087. Esta variante de control carece de la mutación C34S/N504Q introducida originalmente por Merrimack en su molécula MM-111. Se construyeron moléculas adicionales relacionadas con MM-111: 1) albúmina fusionada solo a la carga útil anti-Her3 (H3) en el extremo N (v1088) y 2) el anti-Her2 (B1D2) fusionado al extremo C (v1089). En ambos casos, los enlazadores utilizados fueron idénticos a MM-111. Todas las moléculas se expresaron en una proporción 1:1 en células de CHO y se purificaron como se describe para las fusiones multiméricas 4D5.

Anti-Her2 scFvs Simple

El scFv humano anti-Her2 libre (v218) se expresó en células de CHO3E7 1L (v218). Una etiqueta (His)₆ se fusionó al extremo C a través de un enlazador escindible que contiene un sitio de proteasa TEV. La proteína se purificó por afinidad metálica (Co²⁺) (volumen de columna = 1 mL) acoplada a un sistema de fractogel seguido de cromatografía de exclusión por tamaño Superdex 200. Los rendimientos post-purificación fueron 3,6 mg de 4D5 scFv después de la afinidad por Co²⁺ y 1,38 mg después de la exclusión por tamaño.

La Figura 31A es una SDS-PAGE que representa la purificación de v218 después de la afinidad por Co²⁺. Se proporcionan el producto de expresión post-lavado, elución en columna y desalación. La Figura 31B es el perfil de cromatografía de la variante que sigue a la segunda purificación a través de la columna de exclusión por tamaño.

Control de moléculas de Fc (878, 628 y 630):

Un único scFv humano anti-Her2 (4D5) se fusionó con un fragmento Fc para producir un producto de anticuerpo monovalente y monoespecífico. Con el fin de garantizar la formación del Fc heterodimérico, se incluyeron mutaciones heteroconductoras en la cadena Fc.

V878: OA4-scFv-B1D2, un anticuerpo anti-Her2 monovalente, donde el dominio de unión a Her2 es un scFv en la cadena A, y la región Fc es un heterodímero que tiene las mutaciones L351Y_F405A_Y407V en la cadena A y T366L_K392M_T394W en la cadena B.

V628: un anticuerpo bivalente anti-Her2, donde ambos dominios de unión a Her2 están en formato scFv, y la región Fc es un heterodímero que tiene las mutaciones L351Y_S400E_F405A_Y407V en la Cadena A y T366I_N390R_K392M_T394W en la Cadena B.

V630: un anticuerpo monovalente anti-Her2, donde el dominio de unión a Her2 es un scFv, y la región Fc es un heterodímero que tiene las mutaciones L351Y_S400E_F405A_Y407V en la Cadena A y T366I_N390R_K392M_T394W en la Cadena B.

La Tabla 15 proporciona un listado de las secuencias de polipéptidos para las variantes descritas en esta sección.

Tabla 15:

Variante	Polipéptido A SEQ ID No: (nt/aa)	Polipéptido B SEQ ID No: (nt/aa)
1377	161/162	163/164
1378	165/166	167/168
1090	169/170	171/172
1087	155/156	
1088	157/158	
1089	159/160	
218	93/94	
878	145/146	
628	151/152	149/150
630	153/154	149/150

1092	137/138	139/140
1093	141/142	143/144
1094	133/134	
1095	135/136	

Ejemplo 12. Unión de diana a células SKOV por ABH2 fusionado a anti-Her2 4D5 scFvs en configuraciones multivalentes.

5

La afinidad de las proteínas de fusión ABH2 anti-Her2 a las células Her2⁺ se examinó en este Ejemplo. Las diversas configuraciones de unión a scFv se proporcionan en la Figura 17. El ABH2 (AlbuCORE™) solo, el scFv anti-Her2 solo, una molécula Fc monovalente de un brazo y una molécula Fc bivalente de dos brazos se utilizaron como controles. Estos se resumen en el panel "Controles" de la Figura 17. La proteína ABH2 se construyó según el Ejemplo 2 y las

10 proteínas de fusión se crearon según el Ejemplo 11.

Evaluación de Unión por FACS

La afinidad de unión de las diversas construcciones y controles anti-Her2 ABH2 a las células SKOV que expresan

15 Her2 se evaluó mediante FACS. La detección se realizó utilizando un policlonal anti-HSA (marcado con FITC). Todos los K_D determinados son evidentes.

Unión a Célula Completa mediante Protocolo FACS:

20 Una vez que las células han alcanzado viabilidad suficiente (es decir, 2x10⁶ células/ml de células (> 80 % de viabilidad)) los medios se aspiraron del matraz de cultivo T75 y se lavaron con PBS frío, que posteriormente se aspiró. Se añadieron 3 ml de tampón de disociación por matraz y se contaron las células. La suspensión se centrifugó a 1050 rpm durante 5 minutos y las células se resuspendieron en medio RPMI que contenía 5 % de FBS a 1x10⁵ células/100 µl. Se añadieron 100 µl de suspensión celular a tubos eppendorf con la posterior adición de 10 µl/tubo del anticuerpo

25 primario (HSA anti-humano de cabra). Las células fueron a continuación incubadas durante 2 horas a 4°C en un soporte giratorio. Los tubos se centrifugaron a continuación durante dos minutos a 2000 rpm a temperatura ambiente. El medio se aspiró y el sedimento se lavó con 500 µl de medio RPMI que contenía 5 % de FBS y se volvió a centrifugar. El anticuerpo secundario (IgG anti-cabra conjugado con Alexa Fluor 488) se añadió para una concentración final de 2 µg/muestra. El sedimento se resuspendió en una solución de 100 µl, se incubó durante 1 hora a 4°C en soporte giratorio

30 y se centrifugó 2 minutos a 2000 rpm. Las células se lavaron a continuación con 500 µl de medio RPMI que contenía 5 % de FBS re-centrifugado y resuspendido en 500 µl por sedimento para análisis de citometría de flujo.

Los valores de K_D para cada construcción se proporcionan debajo de la ilustración representativa en la Figura 17. Todos los K_D determinados son evidentes y los valores representan un promedio de seis concentraciones probadas

35 por molécula, hasta 3 µM. Como muestra la figura, el aumento de la valencia tiende a aumentar la afinidad de unión, indicada por la disminución en el valor aparente de K_D. Generalmente, el scFv anti-Her2 unido al extremo N de cualquiera de los polipéptidos de fragmento exhibe una mayor afinidad por Her2 que uno unido al extremo C. En algunas realizaciones, esta propiedad de las especies multivalentes multiespecíficas para reducir la afinidad efectiva en la fusión en posiciones específicas se puede emplear para atenuar la afinidad y la actividad de algunas especies

40 asociadas a la fusión.

Ejemplo 13. Unión biespecífica de ABH2 fusionado a scFvs anti-Her2 y anti-Her3.

Se evaluó la afinidad de unión de un ABH2 cargado en una configuración cis con scFvs anti-Her2 y anti-Her3 a las

45 células MALME-3M y se comparó con el control v1087. Tanto la proteína de fusión como el control se construyeron según el Ejemplo 11.

Análisis FACS de unión biespecífica

50 La afinidad de unión de una variante de heteromultímero basado en albúmina ejemplar 1090 (anti-Her2 x anti-Her3 ABH2) a las células MALME-3M y SKOV se evaluó usando FACS con anticuerpos anti-HSA marcados con FITC, como se describe en el Ejemplo 12. Como se describe en el Ejemplo 11, v1090 comprende fusiones B1D2/H3, la longitud del enlazador Merrimack y el enlazador menos hidrófobo polyGLY) (S).

55 La Figura 18A representa la unión de las variantes 1088, 1089 y 1090 en comparación con el control 1087 en células

SKOV. La Figura 18B representa la unión de las variantes 1088, 1089 y 1090 en comparación con el control 1087 en células MALME-3M. La Tabla 16 a continuación proporciona datos con respecto a la caracterización de la unión de estas variantes en ambos tipos de células. Todos los conjuntos en la Tabla 16 son nM a menos que se indique lo contrario. La unión a las células MALME-3M para 1087 y 1090 fue de 5-55 nM y 200-10,000 nM, respectivamente. La unión a las células SKOV para 1087 y 1090 fue de 10 nM y 9,4 nM, respectivamente.

Tabla 16: Datos de unión para variantes en células SKOV y MALME-3M.

Variante	carga útil en el extremo N natural (pos. 1)	carga útil en el extremo C natural (pos. 2)	Kd (MALME 20120529)	Bmax (MALME 20120529)	Kd (SKOV 20120603)	HillSlope (MALME 20120529)	Bmax (MALME 20120603)
1087 (MM-111)	HER3	HER2	12 uM	1469	10,69	0,97	6583
1088 (HSA no dividida)	HER3	--	0,8 uM	74	5 uM	1,0	
1089 (HSA no dividida)	--	HER2	60 uM	1149	1,8	1,8	1572
1090 (AlbuCORE)	HER3	HER2	0,2 uM	323	9,4	0,7	2658

10 Ejemplo 14. Estabilidad sérica de ABH2 fusionado a anti-Her2.

La estabilidad de ABH2 cargado con un anti-Her2 en suero humano se realizó para evaluar la posible escisión proteolítica del enlazador. Se probaron cinco variantes: v517, v518, v519 y v520

15 Incubación de sueros humanos y posterior análisis FACS.

Las proteínas de fusión anti-Her2 ABH2 descritas anteriormente se probaron para la unión a células SKOV y a continuación se incubaron en sueros humanos previamente congelados a 100 µg/ml (Sigma # H4522) para 24 horas a temperatura ambiente, antes de volver a realizar la prueba de unión a la misma reserva de células SKOV. La detección se realizó usando anticuerpo anti-HSA policlonal marcado con FITC de cabra. La afinidad de unión de la proteína de fusión a las células SKOV-3 se evaluó utilizando FACS, con proteínas de preincubación utilizadas como control. Las Figuras 19A a D representan la curva de unión de las muestras de incubación previa y posterior a la incubación de las variantes probadas.

25 Como se muestra en las Figuras 19A a D, todas las fusiones parecían estables y capaces de unirse al antígeno diana después de la incubación del suero.

Ejemplo 15. Unión de FcRn de ABH2 fusionado a scFvs anti-Her2 y anti-Her3.

30 La afinidad de ABH2 cargado en una configuración trans con scFvs anti-Her2 y anti-Her3 se evaluó para la unión a FcRn y se comparó con HSA de natural y el control 1087.

Para este experimento se utilizó el control de referencia v1087 y una de las fusiones AlbuCORE HER2/HER3 (v1378). La Figura 20A ilustra la configuración trans de la fusión v1378.

35 Unión a FcRn.

40 FcRn humano (hFcRn) se inmovilizó en la superficie SPR y se hicieron fluir anti-Her3 x Her2 ABH2 (v1378) y v1087 purificados a pH 6,0. Los procedimientos son idénticos al Ejemplo 2, excepto que se invirtió la direccionalidad del ensayo.

Las Figuras 20A y 20B muestran las diferentes curvas de unión de Anti-Her2 x Her3 ABH2 y V1087 respectivamente. El Anti-Her2 x Her3 ABH2 se unió a hFcRn con una KD de 0,97 µM, mientras que la molécula V1087 se unió a hFcRn con una KD de 2,76 µM. De las figuras, se puede ver que tanto la fusión ABH2 como la v1087 son comparables en

2006, 45, 4983-4990).

Ejemplo 16. Estabilidad en laboratorio de ABH2 y anti-Her2 ABH2 monovalente.

- 5 La estabilidad en laboratorio tanto del andamio ABH2 como de una proteína de fusión monovalente ABH2 anti-Her2 (v517) se evaluó durante un período de cinco días a tres temperaturas diferentes.

Estabilidad en Laboratorio

- 10 Las muestras de cada molécula se dividieron en nueve tubos, conteniendo cada tubo ~10 µg de proteína. Se colocó una cantidad inicial de material correspondiente a 10 µg de proteína en PBS a 1 mg/ml y se incubó a 37°C (baño), temperatura ambiente (TA) o 4°C (refrigerador); la estabilidad de la proteína se evaluó en el transcurso de cinco días. En cada momento se extrajo una alícuota y se mezcló 1:1 con tampón de carga Commassie Blue con posterior congelación. Después de la última etapa, todas las alícuotas se descongelaron y se cargaron en un gel nativo, junto con SDS-PAGE reductora y no reductora.

La Figura 21 es un gel nativo del andamio ABH2 y la fusión ABH2 anti-Her2 los días 1, 3 y 5. Como lo demuestra la figura, tanto el andamio ABH2 como el anti-Her2 ABH2 se mantuvo estable durante el período de 5 días. La banda doblete visible para la proteína de fusión probablemente representa dos estados de reducción diferentes del disulfuro.

- 20 En presencia de agente reductor, las dos bandas de hecho colapsan en una.

Ejemplo 17. Optimización de la purificación utilizando el procedimiento AlbuPure®

- Como alternativa a la purificación con Blue Sepharose descrita en el Ejemplo 2, que conduce a cierta cantidad de contaminantes residuales en la elución y la necesidad de una alta elución de sal, se empleó el procedimiento de purificación por afinidad basado en AlbuPure®. Los procedimientos de optimización consistieron en probar la unión a la matriz de Blue Sepharose tanto en modo discontinuo como directo, se probaron diferentes protocolos de elución, junto con diferentes pH y temperaturas. Finalmente, se probó una resina específica (es decir, AlbuPure®) adaptada a la purificación de albúmina y fusiones de albúmina. Se probaron diferentes condiciones de unión y elución usando AlbuPure®, que implican la unión en presencia de diferentes sales y elución usando un gradiente de pH o detergentes competidores.

Purificación de HSA natural: comparación de Blue Sepharose con AlbuPure®

- 35 La purificación con Blue Sepharose se realizó en HSA natural según los procedimientos descritos en el Ejemplo 2. La Figura 22A es un perfil de gel SDS-PAGE no reductor del flujo total, fracciones de lavado y elución obtenidas durante la purificación con Blue Sepharose. La Figura 22B representa el análisis LC de la fracción de elución con Blue Sepharose después de la filtración en gel (SEC). Como se puede ver en los numerosos picos en el cromatograma, hubo una contaminación significativa de proteínas e iones incluso después de la purificación.

- 40 La purificación con AlbuPure® se realizó en HSA natural como sigue. El sobrenadante celular que contiene HSA natural se solubilizó en PBS. Columnas AlbuPure® preempaquetadas (volumen de la columna: 1 mL) se equilibraron en acetato de sodio 50 mM a pH 5,3. Después de cargar el sobrenadante, la columna se lavó tres veces con soluciones que contienen acetato de sodio 50 mM, pero aumentando el pH (es decir, el 1° era pH 6; el 2° era pH 7). El lavado final se realizó en acetato de amonio, pH 8,0. La proteína de interés se eluyó a continuación usando una solución que contenía acetato de amonio 50 mM, pH 7,0 suplementado con octanoato de sodio 10 mM. El procedimiento con AlbuPure® solo requirió una etapa para obtener una cantidad comparable de proteína a la de Blue Sepharose. Rendimientos de proteínas de 500 ml de cultivo de CHO inicial se muestran en la Tabla 17 a continuación.

- 50 Tabla 17: Rendimientos de proteínas después de la purificación.

ID de Variante	Purificación por Blue Sepharose (pre SEC)	Purificación por Blue Sepharose (post SEC)	AlbuCORE (elución con octanoato)	Cultivo celular inicial	Comentarios
V221 (HSA desnuda)	8,6 mg	2,79 mg	10,34 mg	500 mL	
V519	3,3 mg	1,8 mg	8,16 mg	500 mL	Fusión de HER2 Carga útil parece estar

ID de Variante	Purificación por Blue Sepharose (pre SEC)	Purificación por Blue Sepharose (post SEC)	AlbuCORE (elución con octanoato)	Cultivo celular inicial	Comentarios
					escindida proteolíticamente
V520	4 mg	0,93 mg	4,3 mg	500 mL	Fusión de HER2 Carga útil parece estar escindida proteolíticamente

La Figura 22C representa un análisis LC de la fracción de elución de la columna de afinidad de AlbuPure después de la filtración en gel (SEC). Una comparación de las Figuras 22B y 22C demuestra que el procedimiento de AlbuPure da como resultado una solución final con un nivel mucho más alto de pureza que la de Blue Sepharose junto con una cantidad menor de proteína de agregación de MW más alta.

Purificación de los AlbuCORE diseñados: Comparación de HSA natural y los AlbuCORE diseñados usando AlbuPure®

Los péptidos de dos fragmentos de AlbuCORE-1A, 3, 6 y 9 descritos en la Tabla 11 se expresaron de forma transitoria en células de CHO usando vectores separados. La proporción de ADN óptima para la expresión de los dos fragmentos que constituyen las diferentes moléculas de AlbuCORE fueron (fragmento 1:fragmento 2) AlbuCORE-1=1:1; AlbuCORE-3=1:2; AlbuCORE-6=1:1; AlbuCORE-9=2:1. Todas las expresiones fueron transitorias y se realizaron de manera idéntica a las moléculas de AlbuCORE anteriores. La HSA natural también se expresó transitoriamente en células de CHO. Rendimientos de expresión de las proteínas de fusión estaban dentro del 75 % de la WT-HSA (aprox. 50-70 mg/L). La cantidad de material se determinó por A280 después de purificación con albu pura.

Después de la coexpresión, los andamios de AlbuCORE se purificaron utilizando el protocolo AlbuPure® descrito anteriormente. Para evaluar la pureza, el eluyente de la columna de afinidad AlbuPure® se procesó a través de un sistema de filtración en gel (SEC) y se analizó el flujo usando LC. Lo mismo se realizó para HSA natural. La Figura 23A representa el cromatograma de la HSA natural, mientras que las Figuras 23B, 23C, 23D y 23E son cromatogramas de AlbuCORE 1, 3, 6 y 9, respectivamente. Como demuestran estas figuras, los rendimientos de purificación de AlbuPure® son resultados comparables entre AlbuCORE natural y diseñado. Se determinó que los rendimientos en términos de mg de proteína purificada de 500 ml de cultivo de CHO inicial después de la purificación con AlbuPure® fueron: AlbuCORE-1 = 16 mg; AlbuCORE-3 = 25 mg; AlbuCORE-6 = 27; AlbuCORE-9 = 25 mg.

Ampliación de la Expresión y Purificación de AlbuCORE-1

AlbuCORE-1 se coexpresó transitoriamente en CHO usando el vector pTT5 en una proporción de 1:1 fragmento A:B, ver ejemplo 2. Los rendimientos purificados de AlbuCORE-1 en células de CHO fueron aprox. 10 mg/L, que es comparable al rendimiento de 9 mg/L de v1087 en células de CHO, calculado a partir de la misma cantidad de material de partida.

AlbuCORE-1 se purificó utilizando el protocolo AlbuPURE descrito anteriormente. El eluyente de la columna de afinidad se aplicó a un sistema de análisis de filtración-LC por gel. La Figura 24A representa el cromatograma de la purificación con AlbuPure. El pico principal representa la proteína de interés.

Las muestras purificadas también se analizaron mediante geles SDS-PAGE reductores y no reductores, representados en la Figura 24B. Como lo demuestra la figura, en condiciones no reductoras, el producto eluyente clave es la proteína AlbuCORE-1 completa; en condiciones reductoras, la proteína AlbuCORE-1 se separa en los dos fragmentos descritos anteriormente. Significativamente, hay poca contaminación, especialmente cuando se compara con la Figura 22A.

SDS-PAGE y análisis LC/MS de AlbuCORE-1 y WT HSA

El eluyente total, de flujo, de lavado y de las purificaciones HSA natural y AlbuCORE-1 se recogieron y analizaron mediante SDS-PAGE no reductor. Como se muestra en la Figura 25A, que representa los perfiles de gel mencionados anteriormente, se demuestra que hay poca contaminación después del procedimiento con AlbuPure (comparar la Figura 25A y la Figura 22A) y tampoco hay formación de homodímero.

La proteína purificada se analizó a continuación usando LC/MS. Las muestras de proteínas se analizaron por LC-MS usando un sistema HPLC Agilent 1100 acoplado a un espectrómetro de masas híbrido LTQ-Orbitrap XL (ThermoFisher Scientific) a través de una interfaz de electrospray de alto flujo. Las muestras (2,5 µg) se inyectaron en una columna 5 Poros R2 de 2,1 x 10 mm (Applied Biosystems) y se eluyeron usando un gradiente de 2 mL/min de 20-90 % ACN, 0,1 % FA durante 3 minutos. El flujo se dividió después de la columna para dirigir 100 µL/min a la interfaz de electrospray. La columna y el solvente se calentaron a 80°C para mejorar la forma del pico de la proteína. El LTQ-Orbitrap XL se calibró utilizando la solución de calibración LTQ Positive Ion ESI de ThermoFisher Scientific (cafeína, MRFA y Ultramark 1621), y se ajustó utilizando una solución de BSA de 25 µg/ul. El voltaje del cono (configuración de fragmentación de fuente) fue de 40 V, la resolución FT fue de 7.500 y el intervalo de barrido fue m/z 400-4.000. Los 10 espectros de proteínas se desconvolucionaron usando el software ThermoFisher's Promass (intervalo de entrada: m/z 2500-3050; intervalo de masa de salida: 100.000-160.000 Da; Ancho de pico: 1,5; Ancho de fusión: 0,5; Eliminación de línea base: 0,5 (bajo)). Las abundancias de las especies de anticuerpos hétero y homodímeros se determinaron directamente a partir de los perfiles de peso molecular resultantes. La linealidad de la respuesta se confirmó utilizando 15 mezclas definidas de anticuerpos. Los límites de detección fueron aproximadamente del 2 %. La Figura 25B proporciona los espectrogramas de AlbuCORE-1 purificado y WT-HSA. Como lo demuestra el espectrograma para AlbuCORE-1, no hay formación de homodímero (como A:A o B:B). La variación del peso molecular teórico puede deberse a la unión de iones, ligandos misceláneos o glicosilación.

20 Ejemplo 18. Organización espacial de los extremos de polipéptidos basados en albúmina.

Polipéptidos basados en albúmina proporcionan un andamio alternativo a los anticuerpos para el suministro de moléculas de carga. Como lo demuestra la diferencia entre las Figuras 26A y 26B, los polipéptidos diseñados basados en albúmina tienen un mayor grado de libertad posicional en comparación con los anticuerpos regulares, ya que la 25 separación espacial entre los cuatro extremos varía significativamente más. Las distancias se determinaron después de modelar la molécula de AlbuCORE en una de las estructuras cristalinas disponibles: PDBID = 4EMX. Además, los cuatro términos también están orientados en diferentes ángulos planos.

Finalmente, las distancias y ángulos entre los extremos pueden estar sujetos a una modulación adicional al elegir 30 diferentes sitios de segmentación, dominios de unión y/o enlazadores. La Figura 26C muestra andamios alternativos de AlbuCORE disponibles para variar las distancias entre extremos para la optimización de la unión al antígeno en modos de unión multivalente.

35 Ejemplo 19. Estabilidad de polipéptidos adicionales basados en albúmina medidos por DSC

Para determinar la estabilidad y los puntos de fusión de polipéptidos AlbuCORE adicionales, se realizaron experimentos DSC en AlbuCORE-3, 6 y 9, así como los controles WT-Albumin y AlbuCORE-1. Los experimentos de DSC se realizaron como se establece en el Ejemplo 2. La Figura 27 muestra la curva de fusión de cuatro andamios, en comparación con la de WT-HSA. Como muestra la Figura, los andamios 3, 6 y 9 poseen puntos de fusión muy 40 similares a los 75°C demostrados por el natural. Además, se descubrió que AlbuCORE-6 era más estable térmicamente que la HSA natural, a 76°C. Se realizaron experimentos DSC adicionales en AlbuCORE 1A y 4. La Tm de AlbuCORE 1A fue de 66°C y la Tm de AlbuCORE-4 fue de 70°C. AlbuCORE-1A reduce la brecha entre los dos fragmentos en AlbuCORE 1 (ABH1) a un solo residuo y agrega un enlazador GGGGS a los términos no naturales N y C. Lo mismo se aplica a AlbuCORE 2 (ABH2) y AlbuCORE-2A.

45 Ejemplo 20: Preparación de construcciones de heteromultímero anti-CD3 x CD19.

Anti-CD3 y anti-CD 19 scFv se unieron a varias plataformas de anticuerpos diferentes de la siguiente manera. La plataforma de polipéptidos basada en albúmina fue AlbuCORE-1; los controles incluyeron WT-HSA, el andamio 50 asimétrico (v873) y el control anti-CD3 x CD19 BiTE v891.

ABH2 cargado con scFvs anti-CD19 x anti-CD3 (1092, 1093, 1094 y 1095): Las secuencias para los scFvs anti-CD19 y anti-CD3 se eligieron entre dos moléculas que están actualmente en ensayos clínicos y están bien documentadas y probadas para estabilidad y producción. Los scFv anti-CD 19 y anti-CD3 se adoptaron directamente de la molécula 55 BiTE blinatumomab. El scFv antiCD3 se eligió en la orientación VH-VL, consistente con lo que se usó en BiTE. La molécula de referencia fue BiTE. Fusiones AlbuCORE_1 (ABH2) CD3/CD19 se crearon uniendo la carga útil antiCD3 al extremo N natural del fragmento 1 y el antiCD19 al extremo C del fragmento 2 (v1092). Se creó una segunda molécula donde se invirtieron las cargas útiles (es decir, carga útil anti-CD 19 en el extremo N natural del fragmento 1 y el anti-CD3 en el extremo C del fragmento 2, v1093). Los enlazadores utilizados fueron idénticos a los utilizados para 60 los experimentos de HER2 AlbuCORE multivalentes: GGGGS en el extremo N del fragmento 1 y (GGSG)₄GG en el

extremo C del fragmento 2. La expresión y la purificación se realizaron como se describió previamente para el HER2 multivalente. Las moléculas 1093 y 1094 fueron diseñadas para acomodar dos fusiones diferentes en sus extremos naturales. Las fusiones scFv se unieron a la molécula de albúmina a través de un enlazador GGS en el extremo N y un enlazador GGSG en el extremo C. La longitud de los enlazadores refleja los utilizados en la molécula MM-111, a pesar de tener un tipo de secuencia diferente. Representaciones esquemáticas de estas moléculas se muestran en la Figura 29.

Heteromultímeros de CD19 monovalentes y multivalentes adicionales y heteromultímeros de CD3 monovalentes basados en ABH2 en los que se cambiaron las posiciones relativas de los polipéptidos de carga se diseñaron con representaciones esquemáticas de algunos de estos heteromultímeros mostrados en la Figura 28B. Estos heteromultímeros se generaron expresando sus polipéptidos transportadores monoméricos simples, SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NO: 10, fusionados en uno o ambos extremos a polipéptidos de carga que son antiCD19scFv (CD19) y/o anti-CD3 scFv (CD3). Se combinaron diferentes combinaciones de estas construcciones de base tras la coexpresión para formar heteromultímeros que muestran toda la combinación de los dos polipéptidos de carga en cualquiera de las cuatro posiciones terminales de los dos polipéptidos transportadores, que van desde monovalente a tetravalente. La Tabla 18 ilustra las construcciones de base (que se generaron fusionando los polipéptidos de carga CD3 y/o CD19 en el extremo N o C del polipéptido transportador 1 (F1) o el polipéptido transportador 2 (F2). F1: corresponde a la SEQ ID 8 y F2 corresponde a la SEQ ID 10.

Tabla 18: Construcciones de base para construcciones monovalentes y multivalentes CD3 y CD19

Fusiones Simples					
#	Fusión 1	Fusión 2	Fusión 3	Polipéptido	SEQ ID NOS:
1	CD3	F1		137/138	
2	F1	CD3		119/120	
3	F1	CD3 (enlazador corto)		181/182	
4	CD3	F2		179/180	
5	CD3 (enlazador corto)	F2		177/178	
6	F2	CD3		141/142	
7	CD19	F1		143/144	
8	F1	CD19		183/184	
9	F1	CD19 (enlazador corto)		189/190	
10	CD19	F2		187/188	
11	CD19 (enlazador corto)	F2		185/186	
12	F2	CD19		139/140	
Fusiones Dobles					
13	CD19	F1	CD19	191/192	
14	CD19	F1	CD19 (enlazador corto)	193/194	
15	CD19	F2	CD19	195/196	
16	CD19 (enlazador corto)	F2	CD19	197/198	
17	CD3	HSA	CD19	133/134	
18	CD19	HSA	CD3	135/136	

Como se muestra en la Figura 28B, los polipéptidos de carga bioactivos se fusionaron con los polipéptidos transportadores de heteromultímeros a través de un enlazador GGSG, para el extremo N de un monómero y un

enlazador más largo (GGS)₄GG para todos los demás extremos en el otro monómero. Además, se creó una versión de cada proteína de fusión con un enlazador más corto en su extremo no natural (es decir, C' del Fragmento 1 y N' del Fragmento 2) formado por la secuencia GSGSGSG, reemplazando (GGS)₄GG.

5 En la Tabla 19 se muestra un resumen de los heteromultímeros que se prepararon.

Tabla 19: Construcciones monovalentes, multivalentes y multiespecíficas que se generaron fusionando los polipéptidos de carga CD3 y CD19 con el extremo N o C del polipéptido transportador 1 o del polipéptido transportador 2 de ABH2.

Variante	Polipéptido transportador de extremo N 1 (SEQ ID No: 8).	Polipéptido transportador de extremo C 1 (SEQ ID No: 8).	Polipéptido transportador de extremo N 2 (SEQ ID No: 10).	Polipéptido transportador de extremo C 2 (SEQ ID No: 10).	Valencia	Secuencias (Polipéptido)
1096	CD3				monovalente	SEQ ID No: 138
						SEQ ID NO: 10
1097		CD3			monovalente	SEQ ID No: 120
						SEQ ID NO: 10
1101 (enlazador corto)		CD3			monovalente	SEQ ID No: 182
						SEQ ID NO: 10
1098			CD3		monovalente	SEQ ID NO: 8
						SEQ ID No: 180
1100 (enlazador corto)			CD3		monovalente	SEQ ID NO: 8
						SEQ ID No: 178
1099				CD3	monovalente	SEQ ID NO: 8
						SEQ ID No: 142
1102	CD19				monovalente	SEQ ID No: 144
						SEQ ID NO: 10
1103		CD19			monovalente	SEQ ID No: 184
						SEQ ID NO: 10
1107		CD19			monovalente	SEQ ID No: 190
						SEQ ID NO: 10
1104			CD19		monovalente	SEQ ID NO: 8
						SEQ ID No: 188
1106			CD19		monovalente	SEQ ID NO: 8

Variante	Polipéptido transportador de extremo N 1 (SEQ ID No: 8).	Polipéptido transportador de extremo C 1 (SEQ ID No: 8).	Polipéptido transportador de extremo N 2 (SEQ ID No: 10).	Polipéptido transportador de extremo C 2 (SEQ ID No: 10).	Valencia	Secuencias (Polipéptido)
						SEQ ID No: 186
1105				CD19	monovalente	SEQ ID NO: 8
						SEQ ID No: 140
1108	CD19			CD19	bivalente	SEQ ID No: 144
						SEQ ID No: 140
1109	CD19	CD19		CD19	trivalente	SEQ ID No: 192
						SEQ ID No: 140
1110	CD19	CD19	CD19	CD19	tetravalente	SEQ ID No: 192
						SEQ ID No: 196
1111 (enlazador más corto en el extremo no natural)	CD19	CD19		CD19	trivalente	SEQ ID No: 194
						SEQ ID No: 140
1112 (enlazador más corto en los extremos no naturales)	CD19	CD19	CD19	CD19	tetravalente	SEQ ID No: 194
						SEQ ID No: 198
1092	CD3			CD19	biespecífico	SEQ ID No: 138
						SEQ ID No: 140
1093	CD19			CD3	biespecífico	SEQ ID No: 144
						SEQ ID No: 142

Se generaron construcciones multivalentes como se describe en el Ejemplo 2 usando el heteromultímero ABH2. Los productos génicos finales se subclonaron en el vector de expresión de mamífero pTT5 (NRC-BRI, Canadá) (Durocher y col.). La producción de proteínas recombinantes de alto nivel y alto rendimiento por transfección transitoria de CHO-3E7 humano en suspensión se realizó como se describe en el Ejemplo 2.

Los resultados de expresión se muestran en la Figura 28C. Las fusiones monovalentes de CD3 y CD19 se expresan a niveles similares. La expresión de CD3 y CD19 monovalentes tiene el mismo patrón (en términos de MW) que el observado con las fusiones de HER2, lo que indica que las variaciones en la migración en gel no reductor son independientes del tipo de carga útil.

Ejemplo 21: Capacidad del polipéptido basado en albúmina cargado con anti-CD3 x CD19 para unirse a células B y células T.

- 5 La capacidad de AlbuCORE-1 cargado con Anti-CD3 x CD19 (v1092 y 1093) a las células CD3⁺ y CD19⁺ se evaluó usando FACS y se comparó con WT-HSA cargado con el mismo anti-CD scFvs (1094 y 1095). Las construcciones AlbuCORE-1 se probaron adicionalmente contra Azymetric™ y BiTE MT-103 para la unión de células B y células T de la siguiente manera. El procedimiento se llevó a cabo como se describe en el Ejemplo 13, pero en células MALME-3M y células SKOV.
- 10 Los resultados se muestran en la Figura 29 que muestra los datos de K_D y HillSlope para las variantes probadas en las células Jurkat y Raji.

Ejemplo 22: Capacidad del polipéptido basado en albúmina cargado con anti-CD13 x CD19 para unirse a células B y células T.

La capacidad de las variantes 1092 y 1093 para puentear las células B y T se determinó como sigue.

Puenteo de Células Completas mediante FACS

- 20 1 x 10⁶ células/ml suspendidas en RPMI se marcaron con 0,3 µM de la etiqueta □ CellTrace apropiada y se mezclaron e incubaron a 37°C en un baño de agua durante 25 minutos. Sedimentos fueron resuspendidos en 2 ml de L10 + GS1 + NaN₃ a una concentración final 5x 10⁶ células/ml. Las suspensiones celulares se analizaron (dilución 1/5) por citometría de flujo para verificar el etiquetado celular apropiado y la configuración del láser. Se usaron fluorosferas de
- 25 verificación de flujo y de ajuste de flujo para verificar la estandarización del instrumento, la alineación óptica y la fluidez.

Después de la verificación de citometría de flujo, y antes del puenteo, cada línea celular se mezcló en la proporción deseada, a una concentración final de 1x10⁶ células/ml.

- 30 El puenteo T:T se evaluó con Jurkat-violeta + Jurkat-RojoLejano, □ B:B se evaluó con RAJI-violeta + RAJI-RojoLejano □ y T:B se evaluó con Jurkat-violeta + RAJI-RojoLejano.

Las variantes de anticuerpos se diluyeron a 2x en L10+GS1+NaN₃ a temperatura ambiente y a continuación se agregaron a las células seguido de una mezcla suave y una incubación de 30 minutos.

- 35 Después de la incubación de 30 minutos, se añadieron 2 µl de yoduro de propidio, se mezclaron lentamente y se analizaron inmediatamente por citometría de flujo.

- El % de puenteo se calculó como el porcentaje de eventos que se etiquetan simultáneamente como violeta y rojo
- 40 lejano. □

- La Figura 30A compara la capacidad de v1093, un anticuerpo bi-específico CD3/CD19 (v873) y el control similar a BiTE v891 para unir las células T Jurkat CD3 (cuadrante inferior derecho) con células B Raji CD19 (cuadrante superior izquierdo) por FACS. Las células de T-B puenteadas aparecen en el cuadrante superior derecho. Este resultado
- 45 demuestra que a concentraciones tan bajas como 0,3 nM v1093 es capaz de unir específicamente las células Jurkat T y las células Raji B en un grado similar (31 % de las células totales) como BiTE (21 % de las células totales) y un anticuerpo CD3/CD19 bi-específico con un Fc heterodimérico (25 %).

- La Figura 30B compara la capacidad de v1092 con los controles v891, v873 y v221. Esta figura muestra que v1092
- 50 puede puentear células T Jurkat y células Raji B en un grado similar al v891 (BiTE).

SECUENCIAS:

1. SEQ ID NO: 91 (v438: NM32 scFv NT)

TCAAGCGAGCTGACCCAGGACCCCGCCGTGAGCGTCGCACTGGGGCAGACCGTGCGCA
 TCACATGCCAGGGAGATAGCCTGCGATCCTACTATGCATCTTGGTACCAGCAGAAGCCA
 GGACAGGCACCTGTGCTGGTCATCTATGGGAAAAACAATAGACCATCAGGCATCCCCG
 ACAGGTTTCAGCGGAAGCTCCTCTGGCAACACAGCTTCTCTGACCATTACAGGCGCACAG
 GCCGAGGACGAAGCAGATTACTATTGCAACAGTCGGGATAGTTCAGGGAATCACGTGG
 TCTTTGGAGGAGGAAGTAAGCTGACCGTGGGAGGAGGATCAGGAGGAGGAAGCGGAG
 GAGGCAGCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAAGTGGAGAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCG
 GAGGAGGAGTGGTCCGACCTGGAGGGTCACTGCGACTGAGCTGTGCAGCTTCCGGCTT
 CACATTTGACGATTACGGGATGTCATGGGTGAGACAGGCCCCAGGGAAAGGACTGGAA
 TGGGTCTCCGGCATCAACTGGAATGGAGGCTCTACTGGATACGCCGACAGTGTGAAGG
 GCAGGTTACCATTTCCCGCGATAACGCTAAAAATTCTCTGTATCTGCAGATGAACAGT
 CTGAGGGCCGAGGACACTGCCGTGTACTATTGTGCCCCGGGCAGATCCCTGCTGTTTGA
 TTACTGGGGCCAGGGGACACTGGTGACTGTCTCTCGCGGCAGTGAAAATCTGTATTTTC
 5 AG

2. SEQ ID NO: 92 (v438: NM32 scFv AA)

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVTVIYGKNNRPSGIPDRFS
 GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHVVFGGGTKLTVGGSGGGSGGGSGGG
 SGGSGGEVQLVESGGGVVVRPGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQAPGKLEWVSGINW
 NGGSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRSLFDYWGQGT
 10 VTVSRGSENLVYFQ

3. SEQ ID NO: 93 (V218: 4D5 scFv NT)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAC
 CATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGACGTAAACACCGCTGTAGCTTGGTATCAGCAGAAA
 CCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATTCTGCATCCTTTTTGTACAGTGGGGTCCC
 ATCA**A**GGTTCAGTGGCAGTCGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGC
 AACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGCATTACACTACCCACCCACTTTC
 GGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAAGGTGGTTCTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTT
 CTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTTCTGGTGAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGC
 TTGGTACAGCCTGGCGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACATTAA
 AGATACTTATATCCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTGCGA
 CGTATTTATCCACAAATGGTTACACACGGTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTAC
 CATCTCCGCAGACACTTCCAAGAACACCGCGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCT
 GAGGACACGGCCGTTTATTACTGTTCAAGATGGGGCGGAGACGGTTTCTACGCTATGGA
 CTACTGGGGCCAAGGGACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGCAGCGAGAACCTGTATTTTC
 AG

4. SEQ ID NO: 94 (V218: 4D5 scFv AA)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRF
 SGRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGG
 GSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGY
 TRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT
 LTVSSGSENLVYFQ

5

5. SEQ ID NO: 95 (Construcción base # 1)

AGTAGCGAACTGACACAGGACCCCGCAGTGAGCGTCGCACTGGGACAGACAGTGCGAATC
 ACTTGCCAGGGGGACTCACTGCGGAGCTACTATGCCTCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGC
 CAGGCTCCCGTGCTGGTCATCTATGGCAAGAACAATAGGCCTAGTGGGATTCCAGATCGCT
 TTTCAGGGAGCTCCTCTGGAACACTGCAAGTCTGACCATTACAGGCGCTCAGGCAGAGG
 ACGAAGCCGATTACTATTGCAACAGCAGGGACAGTTCAGGGAATCACGTGGTCTTCGGAG
 GAGGAACTAAGCTGACCGTGGGAGGAGGCAGCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAAGTGGG
 GGAGGATCAGGAGGAGGAAGCGGAGAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGAGTGGT
 CCGGCCAGGAGGGTCCCTGAGACTGTCTTGTGCCGCTAGTGGATTCACTTTTGACGATTAC
 GGAATGTCATGGGTCCGGCAGGCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGAGCGGCATCAAC
 TGAATGGAGGCTCCACAGGGTACGCTGATTCTGTGAAAGGACGCTTACTATTAGCCGAG
 ACAACGCCAAGAACAGCCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAGAGCTGAGGATACCGCAG
 TGTACTATTGCGCCAGGGGCCGCTCTCTGCTGTTGACTACTGGGGACAGGGCACACTGGT
 GACTGTCTCACGCGGGGGAAGCGGGGATGCTCACAAGTCCGAGGTCGCACATCGATTCAA
 AGACCTGGGAGAGGAAAATTTTAAGGCCCTGGTGCTGATCGCCTTCGCTCAGTATCTGCAG
 CAGTGCCCTTTTGAAGACCACGTGAAACTGGTCAACGAGGTGACCGAGTTCGCCAAGACA
 TGCCTGGCCGACGAGAGTGCTGAAAATTGTGATAAATCACTGCATACCCTGTTTGAGAGATA
 AGCTGTGTACCGTGGCCCACTGCGGGAGACATACGGCGAAATGGCAGACTGCTGTGCCA
 AACAGGAGCCTGAAAGAAACGAGTGCTTCCTGCAGCACAAGGACGATAACCCCAATCTGC
 CTCGACTGGTGC GGCCAGAAGTGGACGTCATGTGTACTGCTTCCACGATAATGAGGAAAC
 CTTTCTGAAGAAATACCTGTATGAGATTGCCCGGAGACATCCATACTTTTATGCCCCGAA
 CTGCTGTTCTTTGCTAAGCGCTATAAAGCAGCCTTCACCGAGTGCTGTCAGGCTGCAGATA
 AGGCCGCTTGCTGCTGCCAAAAGTGGACGAGCTGAGAGATGAAGGCAAAGCAAGCTCCG
 CCAAGCAGAGGCTGAAATGTGCAAGCCTGCAGAAGTTCGGCGAGAGGGCCTTTAAAGCAT
 GGGCCGTGGCTAGACTGTCTCAGAGGTTCCCAAGGCTGAGTTTGCAGAAGTCAGTAAGCT
 GGTGACTGACCTGACCAAAGTGCACACAGAGTGCTGTCATGGCGACCTGCTGGAATGCGC
 CGACGATCGCGCCGATCTGGCTAAGTACATCTGTGAGAACCAGGACTCCATTTCTAGTAAG
 CTGAAAGAGTGCTGTGAAAAGCCACTGCTGGAGAAATCTCATTGCATCGCTGAGGTGGAA
 AATGACGAAATGCCCCGAGATCTGCCTAGCCTGGCAGCCGACTTCGTCGAGTCCAAGGAT
 GTGTGTAAAACTATGCCGAGGCTAAAGATGTGTTTCTGGGAATGTTTCTGTATGAGTATG
 CAAGAGCATGAGGATCC

6. SEQ ID NO: 96 (Proteína de Construcción base # 1)

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGS
SSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHVVFGGGTKLTVGGGSGGGSGGGSGGGSGGG
SGEVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTG
YADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRSLFDYWGQGTLVTVSRGGSG
DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENC
DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMC
TAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRD
EGKASSAKQRLKQKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGD
LLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESK
DVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARA

7. SEQ ID NO: 97 (Construcción base # 2 NT)

GATGCTCATAAATCTGAGGTCGCTCACCGGTTCAAGGATCTGGGCGAGGAAAACCTTTAAAG
CACTGGTGCTGATCGCTTTTCGCACAGTACCTGCAGCAGTGCCCCCTTTGAGGACCACGTGAA
GCTGGTCAACGAGGTGACAGAGTTCGCCAAAACCTTGCCTCGCCGACGAGTCTGCTGAAAA
TTGTGATAAGAGTCTGCATACACTGTTTGGAGATAAACTGTGTACTGTGGCCACCCTGAGA
GAGACTTATGGCGAAATGGCAGACTGCTGTGCCAAGCAGGAGCCTGAAAGGAACGAGTGC
TTCCTGCAGCATAAAGACGATAACCCCAATCTGCCTAGGCTGGTGCGCCCAGAAGTGGAC
GTCATGTGTACCGCCTTCCACGATAATGAGGAAACATTTCTGAAGAAATACCTGTATGAGA
TTGCCCCGAGACATCCATACTTTTATGCACCCGAACTGCTGTTCTTTGCCAAGAGATACAA
AGCCGCTTTCACCGAGTGCTGTCTAGGCAGCCGATAAAGGCTGCATGCCTGCTGCCAAAACCTG
GACGAGCTGCGAGATGAAGGGAAGGCCAGCTCCGCTAAGCAGCGGCTGAAATGTGTAGC
CTGCAGAAGTTCGGAGAGCGAGCCTTCAAGGCATGGGCTGTGGCACGACTGTCCCAGCGG
TTCCCCAAAGCAGAGTTTGCCGAAGTCTCTAAGCTGGTGACAGACCTGACTAAAGTGCACA
CCGAGTGCTGTCATGGCGACCTGCTGGAATGCGCCGACGATCGAGCTGATCTGGCAAAGT
ACATCTGTGAGAATCAGGACAGCATTTCTAGTAAGCTGAAAGAGTGCTGTGAAAAGCCTCT
GCTGGAGAAATCCCACTGCATCGCCGAGGTGGAAAACGACGAAATGCCAGCTGATCTGCC
CTCACTGGCCGCTGACTTTGTCGAGAGCAAGGATGTGTGTAAAAATTATGCCGAAGCTAAG

5

GATGTGTTCTGGGCATGTTTCTGTACGAGTATGCAAGGGCAGGAGGGTCCGGAGGCTCTG
 GAGGAAGTGGAGGGTCAGGAGGCTCAAGCGAACTGACTCAGGACCCCGCTGTGAGCGTCG
 CACTGGGACAGACTGTGAGGATCACCTGCCAGGGGGACAGCCTGCGCTCCTACTATGCATC
 CTGGTACCAGCAGAAGCCTGGCCAGGCCCAAGTGTGGTCATCTATGGCAAAAACAATCG
 GCCCTCAGGGATTCTGATCGGTTTACGCGGGTCCTCTAGTGGAACACAGCTTCTCTGACC
 ATTACAGGCGCTCAGGAGAGGACGAAGCCGATTACTATTGCAACAGCCGCGACTCAAGC
 GGGAATCATGTGGTCTTCGGAGGAGGAACCAAGCTGACAGTGGGAGGAGGCTCTGGAGGA
 GGCAGTGGGGGAGGCTCAGGAGGAGGCAGCGGAGGAGGCTCCGGAGAGGTCCAGCTGGT
 GGAAAGCGGAGGAGGAGTGGTCCGCCAGGAGGATCTCTGCGACTGAGTTGTGCAGCCTC
 AGGATTACCTTTGACGATTACGGAATGAGTTGGGTCCGGCAGGCACCTGGAAAGGGACT
 GGAGTGGGTGAGCGGCATCAACTGGAATGGCGGGAGCACTGGGTACGCTGATTCCGTGAA
 GGGAAGATTACCATTTCCAGGGACAACGCCAAAAATTCTCTGTATCTGCAGATGAATAGT
 CTGAGAGCCGAGGACACAGCTGTGTACTATTGCGCCAGGGGGAGGTCTCTGCTGTTTCGACT
 ACTGGGGGCAGGGCACTCTGGTCACTGTGTCAAGATGAGGATCC

8. SEQ ID NO: 98 (Proteína de Construcción base # 2)

DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENC
 DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLRLVRPEVDVMC
 TAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRD
 EGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTQVHTECCHGD
 LLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESK
 DVCKNYAEAKDVFLGMFLYFYARAGSGSGSGSGSGSGSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQG
 DSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC
 NSRDSSGNHVVFGGGTKLTVGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGGGVVRPGGSLRLS
 CAASGFTFDDYGMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ
 MNSLRAEDTAVYYCARGRSLLFDYWGQGLVTVSR

9. SEQ ID NO: 99 (Construcción base #3 NT)

TCCTCCGAGCTGACCCAGGACCCTGCCGTGTCCGTCGCTCTGGGACAGACCGTGCGGATCA
 CATGCCAGGGAGATAGCCTGAGATCCTACTATGCTAGCTGGTACCAGCAGAAACCCGGCC

AGGCACCTGTGCTGGTCATCTATGGGAAGAACAATCGCCCATCTGGCATCCCCGACCGATT
 CAGTGGAAGCTCCTCTGGCAACACAGCCTCTCTGACTATTACCGGCGCTCAGGCAGAGGAC
 GAAGCTGATTACTATTGCAACAGCAGGGATAGTTTCAGGGAATCACGTGGTCTTTGGAGGA
 GGAACCTAAGCTGACCGTGGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAAGTGGCGGGGGATCAGGAGG
 AGGAAGCGGAGGAGGCAGCGGAGAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGAGTGGTCA
 GACCAGGAGGGTCTCTGAGGCTGAGTTGTGCCGCTTCAGGCTTCACCTTTGACGATTACGG
 AATGTCTTGGGTGCGGCAGGCACCTGGAAAGGGACTGGAGTGGGTGAGTGGCATCAACTG
 GAATGGAGGCAGCACAGGATACGCAGACTCCGTGAAAGGCCGATTCACTATTTACGGGA
 TAACGCCAAGAATAGCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCAGAGGACACAGCCGT
 GTACTATTGTGCCAGGGGCCGCTCTCTGCTGTTTGATTACTGGGGGCAGGGAACACTGGTG
 ACTGTCAGCCGAGGAGGATCTGGAGGGAGTGGAGGCTCAGGAGGAAGCGGAGGGTCCGT
 GGTCTGTGCTGCTGCGACTGGCTAAAACCTTACGAGACCACACTGGAAAAGTGCTGTGCAGCC
 GCTGACCCCCATGAGTGCTATGCAAAAGTGTTTCGATGAGTTCAAGCCTCTGGTCGAGGAAC
 CACAGAACCTGATCAAACAGAATTGTGAGCTGTTTCGAACAGCTGGGCGAGTACAAGTTTC
 AGAACGCCCTGCTGGTGAGATATACCAAGAAAGTGCCCCAGGTCTCTACACCTACTCTGGT
 GGAGGTCAGTAGGAATCTGGGCAAAGTGGGGTCAAATGCTGTAAGCACCCAGAGGCTAA
 GCGCATGCCCTGCGCAGAAGACTACCTGAGCGTGGTCCTGAACCAGCTGTGTGTGCTGCAT
 GAGAAAACCTCCAGTGTCCGATAGGGTCACTAAGTGCTGTACCGAAAGCCTGGTGAACCGG
 AGACCTTGCTTCTCCGCCCTGGAGGTGGACGAAACCTATGTCCCAAAGAGTTTAAATGCCG
 AAACCTTCACATTTACGCTGATATCTGTACCCTGTCCGAGAAGGAACGCCAGATTAAGAA
 ACAGACAGCTCTGGTGGAGCTGGTCAAGCATAAACCCAAAGGCAACAAAAGAACAGCTGAA
 GGCCGTGATGGACGATTTTCGCAGCCTTTGTGGAGAAATGCTGTAAGGCCGACGATAAGGA
 AACTTGCTTTGCTGAAGAAGGGAAGAAACTGGTCGCCGCATCACAGGCTGCTCTGGGACT
 GTGAGGATCC

10. SEQ ID NO: 100 (Proteína de Construcción base # 3)

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGS
 SSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHVVFGGGTLTVGGSGGGSGGGSGGGSGGG
 SGEVQLVESGGGVVRPQGSLRLSCAASGFTFDDYGMSSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTG
 YADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRSLFDYWGQGLVTVSRGGSG
 GSGSGSGSGSVVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC

FEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVV
 LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKE
 RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQA
 ALGL

11. SEQ ID NO: 101 (Construcción base # 4)

AGCGTCGTCCTGCTGCTGAGACTGGCTAAAACATACGAGACCACACTGGAAAAGTGCTGT
 GCCGCTGCAGACCCTCACGAGTGCTATGCCAAAGTGTTTCGATGAGTTCAAGCCTCTGGTCG
 AGGAACCACAGAACCTGATCAAACAGAATTGTGAGCTGTTTGAACAGCTGGGCGAGTACA
 AGTTTCAGAACGCCCTGCTGGTGAGGTATACTAAGAAAGTGCCCCAGGTCAGTACTCCTAC
 CCTGGTGGAGGTCTCACGGAATCTGGGGAAAGTGGAAGCAAATGCTGTAAGCACCCAGA
 GGCAAAGAGAATGCCCTGCGCCGAAGACTACCTGAGCGTGGTCCTGAACCAGCTGTGTGT
 GCTGCATGAGAAAACCTCCAGTGAGCGATAGGGTCACAAAGTGCTGTACTGAATCCCTGGT
 GAACCGGAGACCTTGCTTCTCTGCCCTGGAGGTGGACGAAACCTATGTCCCAAAGGAGTTT
 AATGCTGAAACATTCACCTTTTACGCGAGATATCTGTACACTGAGCGAGAAGGAACGCCAGA
 TTAAGAAACAGACTGCCCTGGTGGAGCTGGTCAAGCATAAACCAAGGCCACCAAAGAAC
 AGCTGAAGGCTGTGATGGACGATTTTCGCCGCTTTTGTGCGAGAAATGCTGTAAGGCAGACGA
 TAAGGAAACATGCTTCGCCGAGGAAGGGAAGAACTGGTGGCAGCAAGCCAGGCTGCACT
 GGGACTGGGAGGGTCTGGAGGCAGTGGAGGATCAGGAGGGAGCGGAGGCAGCTCCGAGC
 TGACCCAGGACCCCGCTGTGAGCGTCGCACTGGGACAGACCGTGCGCATCACATGTCAGG
 GCGATTCCCTGCGATCTTACTATGCTTCCTGGTACCAGCAGAAACCCGGCCAGGCACCTGT
 GCTGGTCATCTATGGAAGAACAATAGACCAAGTGGCATTCCCGACAGGTTCTCAGGCTCT
 AGTTCAGGGAACACCGCCTCCCTGACCATTACAGGCGCACAGGCCGAGGACGAAGCTGAT
 TACTATTGCAACTCTCGGGATAGCTCCGGCAATCATGTGGTCTTTGGGGGAGGCACTAAGC
 TGACCGTGGGGGGAGGCAGTGGGGGAGGCTCAGGAGGAGGCAGCGGAGGAGGCTCCGGA
 GGAGGCTCTGGCGAGGTGCAGCTGGTGAATCCGGAGGAGGAGTGGTCCGACCAGGAGGA
 AGTCTGCGACTGTCATGTGCCGCTAGCGGGTTCACCTTTGACGATTACGGAATGAGTTGGG
 TGCGACAGGCACCTGGAAAGGGACTGGAGTGGGTGTCTGGCATCAACTGGAATGGCGGGT
 CCACTGGCTACGCAGACTCTGTGAAAGGGAGGTTTACCATTAGCCGCGATAACGCCAAGA
 ACAGCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCCGAGGACACAGCTGTGTACTATTGCGC

CAGGGGGAGGTCAGTCTGTTTATTACTGGGGGCAGGGGACTCTGGTCACTGTGTCACGG
 5 TGAGGATCC

12. SEQ ID NO: 102 (Construcción base de Proteína # 4)

SVVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFQLGEYKFQ
 NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEK
 TPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVE
 LVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGSGSGSG
 GSGSGSGSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLSYYASWYQQKPGQAPVLYYGNRPSG
 IPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHVVFGGGKTLTVGGGSGGGSGSGS
 GGGSGGGSGEVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQAPGKGLEWVSGIN
 WNGGSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRSLFDYWGQGLTV
 TVSR

13. SEQ ID NO: 103 (Construcción base 5)

GACATTCAGATGACACAGTCCCCAAGCTCCCTGAGCGCTTCCGTCGGCGATCGAGTGA
 TCACCTGCCGAGCCTCTCAGGACGTCAACACTGCTGTGGCATGGTACCAGCAGAAGCCTGG
 GAAAGCACCAAAGCTGCTGATCTACTCTGCCAGTTTTCTGTATTCTGGAGTGCCAGTAGA
 TTCTCAGGAAGCAGGTCCGGCACCGATTTTACACTGACTATCTCTAGTCTGCAGCCTGAGG
 ACTTCGCCACATACTATTGCCAGCAGCACTATACCACACCCCCTACATTTGGACAGGGCAC
 TAAAGTGGAATTAAGGGCGGGTCAGGCGGAGGGAGCGGAGGAGGGTCCGGAGGAGGGT
 CTGGAGGAGGGAGTGGAGAGGTGCAGCTGGTCAATCCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTG
 GAGGCTCACTGAGGCTGAGCTGTGCCGCTTCCGGCTTCAACATCAAGGATACCTACATTCA
 TTGGGTGACACAGGCTCCTGGGAAAGGACTGGAGTGGGTGGCAAGGATCTATCCAACCAA
 TGGGTACACACGGTATGCCGATAGCGTGAAGGGAAGATTCACTATTTCTGCTGACACTAGT
 AAAAAACACCGCATACCTGCAGATGAATAGCCTGAGGGCAGAGGACACCGCCGTGTA
 TGCTCCCGCTGGGGGGGAGACGGCTTTTACGCCATGGATTATTGGGGCCAGGGGACCTGG
 TGACAGTCTCAAGCGGCGGGTCAGGAGATGCACACAAAAGCGAGGTGCCCCATCGCTTCA
 AGGACCTGGGCGAGGAAAATTTAAAGCCCTGGTGCTGATTGCCTTCGCTCAGTACCTGCA
 GCAGTGCCCATTCGAAGACCACGTGAAGCTGGTCAACGAGGTGACCGAATTTGCCAAAAC

5

ATGCGTCGCTGACGAGTCCGCAGAAAATTGTGATAAGTCTCTGCATACACTGTTTCGGCGAT
 AAAGTGTGTAAGTGTGGCCACCCTGCGCGAGACTTATGGGGAAATGGCCGACTGCTGTGCTA
 AGCAGGAGCCAGAACGAAACGAGTGCTTTCTGCAGCACAAGGACGATAACCCAAATCTGC
 CAAGGCTGGTGCGCCCAGAAGTGGACGTCATGTGTACTGCTTTCCACGATAATGAGGAAAC
 CTTTCTGAAGAAATACCTGTATGAGATCGCCCGGAGACATCCATACTTCTATGCCCCCGAA
 CTGCTGTTCTTTGCTAAACGGTACAAGGCAGCCTTTACCGAGTGCTGTGAGGCTGCAGATA
 AAGCCGCTTGCTGCTGCTAAGCTGGACGAGCTGCGAGATGAAGGCAAGGCATCCTCTG
 CCAAACAGCGGCTGAAGTGTGCCAGCCTGCAGAAATTCGGGGAGCGGGCTTTTAAGGCAT
 GGGCCGTGGCTCGACTGTCTCAGCGGTTCCCAAAGGCTGAGTTTGCAGAAGTCAGTAACT
 GGTGACAGACCTGACTAAGGTGCACACAGAGTGCTGTGATGGCGACCTGCTGGAATGCGC
 CGACGATAGAGCCGATCTGGCTAAGTACATCTGTGAGAACCAGGACAGCATTAGTTCAAA
 GCTGAAAGAGTGCTGTGAAAAACCTCTGCTGGAGAAGAGCCACTGCATCGCAGAGGTGGA
 AAATGACGAAATGCCCGCCGATCTGCCTAGTCTGGCAGCCGACTTCGTCGAGTCAAAAGAT
 GTGTGTAAGAACTACGCCGAAGCAAAAGATGTGTTTCTGGGAATGTTTCTGTATGAGTATG
 CCCGAGCCTGAGGATCC

10 14. SEQ ID NO: 104 (Proteína de Construcción base 5)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSG
SRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHHYTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGE
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADS
VKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLVTVSSGGSG
DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIIFAQYLQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENC
DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPRLPRLVRPEVDVMC
TAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRD
EGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTQVHTECCHGD
LLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESK
DVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARA

15. SEQ ID NO: 105 (Construcción base # 6)

GACGCACATAAGTCCGAGGTCGCTCACAGGTTCAAAGATCTGGGCGAGGAAAACTTTAAG
 GCCCTGGTGCTGATCGCTTTTCGCACAGTACCTGCAGCAGTGCCCATTCGAAGACCACGTGA
 AACTGGTCAACGAAGTGACTGAATTTGCCAAGACCTGCGTCGCCGACGAGTCCGCTGAAA
 ATTGTGATAAATCTCTGCATACTCTGTTTCGGGGATAAGCTGTGTACCGTGGCCACACTGCG
 CGAGACCTATGGAGAAATGGCAGACTGCTGTGCCAAACAGGAGCCAGAACGAAACGAGT
 GCTTTCTGCAGCATAAAGGACGATAACCCAAATCTGCCAAGGCTGGTGCGCCAGAAAGTG
 ACGTCATGTGTACCGCCTTCCACGATAATGAGGAAACATTTCTGAAGAAATACCTGTATGA
 GATTGCCCCGAGACATCCATACTTCTATGCCCCGAAGTGTGTTCTTTGCTAAGCGCTACA
 AAGCCGCTTTTACCGAGTGCTGTCAGGCAGCCGATAAAGCTGCATGCCTGCTGCCTAAGCT
 GGACGAGCTGAGGGATGAAGGAAAGGCCAGCTCCGCTAAACAGCGCCTGAAGTGTGCCTC
 TCTGCAGAAATTCCGGCGAGCGGGCTTTTAAGGCATGGGCTGTGCGACGACTGAGCCAGCG
 GTTCCCAAAGGCAGAGTTTGCCGAAGTCTCCAAACTGGTGACTGACCTGACCAAGGTGCAC
 ACCGAGTGCTGTCATGGCGACCTGCTGGAATGCGCCGACGATAGAGCTGATCTGGCAAAG
 TACATCTGTGAGAACCAGGACAGCATTTCTAGTAAGCTGAAAGAGTGCTGTGAAAAACCC
 CTGCTGGAGAAGAGCCACTGCATCGCAGAGGTGGAACGACGAAATGCCTGCCGATCTG
 CCAAGTCTGGCCGCTGACTTCGTGCGAGTCAAAGATGTGTGTAAGAATTATGCCGAAGCTA
 AGGATGTGTTTCTGGGCATGTTTCTGTACGAGTATGCACGAGCAGGAGGGAGCGGAGGCT
 CCGGAGGATCTGGCGGGAGTGGAGGCGACATCCAGATGACTCAGTCCCCTTCAAGCCTGA
 GTGCTTCAGTCGGCGATCGCGTGACTATTACCTGCCGAGCCTCTCAGGACGTCAATACAGC
 TGTGGCATGGTACCAGCAGAAGCCCGCAAAGCTCCTAAGCTGCTGATCTACAGCGCATCC
 TTTCTGTATTACAGGGGTGCCAGCAGATTCTCTGGCAGTAGATCAGGGACAGATTTTACAC
 TGACTATTTCTCTCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACTTACTATTGCCAGCAGCACTATACC
 ACACCCCTACATTTGGACAGGGCACTAAAGTGGAAATCAAGGGAGGCAGCGGAGGAGG
 ATCTGGAGGAGGAAGTGGAGGAGGATCAGGAGGAGGAAGCGGAGAGGTCCAGCTGGTGG
 AAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTGTCTTGTGCAGCCAGTG
 GCTTCAACATCAAAGATACCTACATTCATTGGGTCAGACAGGCTCCTGGGAAGGGACTGGA
 GTGGGTGGCAAGGATCTATCCAACAAATGGATACACTCGGTATGCCGATAGCGTGAAAGG
 CCGGTTACCATTTTCAGCAGACACCAGCAAGAACACAGCCTACCTGCAGATGAACAGCCT
 GCGAGCTGAGGACACAGCAGTGTACTATTGCAGTCGGTGGGGCGGCGATGGCTTTTACGCT
 ATGGACTATTGGGGGCAGGGGACACTGGTGACTGTGAGTTCTTGAGGATCC

16. SEQ ID NO: 106 (Construcción base de Proteína # 6)

DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENC
 DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMC
 TAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRD
 EGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTQVHTECCHGD
 LLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESK
 DVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARAGGSGGSGGSGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCR
 ASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYC
 QQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGSGGSGGSGGSGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA
 SGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR
 AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSS

17. SEQ ID NO: 107 (Construcción base # 7)

GACATTCAGATGACACAGAGCCCAAGCTCCCTGTCCGCATCTGTGGGCGACCGAGTCACA
 ATCACTTGCCGGGCTCCCAGGATGTGAACACTGCTGTTCGCATGGTACCAGCAGAAACCAG
 GGAAGGCTCCCAAACCTGCTGATCTACAGTGCATCATTCTGTATAGTGGCGTGCCATCAAG
 GTTTAGCGGCTCCCGATCTGGAACCGACTTCACCTGACAATCTCTAGTCTGCAGCCCGAG
 GATTTTGCCACATACTATTGCCAGCAGCACTATAACCACACCCCCTACTTTCGGGCAGGGAA
 CCAAGGTGGAGATCAAGGGAGGGAGCGGAGGAGGGTCCGGAGGAGGGTCTGGAGGCGGG
 AGTGGAGGAGGGTCAGGAGAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCC
 TGGAGGCAGCCTGCGACTGTCCTGTGCCGCTTCTGGCTTTAACATCAAGGACACCTACATT
 CATTGGGTGCGGCAGGCACCTGGCAAAGGACTGGAGTGGGTGGCTAGAATCTATCCAACCT
 AATGGATACACCAGATATGCTGACAGCGTGAAGGGCAGGTTTACTATCAGTGTGATACAT
 CAAAGAACACTGCATACCTGCAGATGAATAGCCTGCGCGCCGAGGATACCGCTGTGTACT
 ATTGTAGCCGATGGGGGGGAGACGGCTTCTACGCCATGGATTATTGGGGACAGGGCACCC
 TGGTGACAGTCTCAAGCGGAGGGAGTGGAGGCTCAGGAGGAAGCGGAGGGTCCGGAGGC
 TCTGTGGTCTCTGCTGCTGAGACTGGCTAAGACCTACGAGACTACCCTGGAAAAATGCTGTG
 CAGCCGCTGACCCCCACGAGTGCTATGCAAAGGTGTTTCGATGAGTTCAAGCCTCTGGTCGA
 GGAACCACAGAACCTGATCAAGCAGAATTGTGAGCTGTTTGAACAGCTGGGCGAGTACAA

5

GTTTCAGAACGCCCTGCTGGTGAGGTATACAAAGAAAGTGCCCCAGGTCAGCACTCCTACC
 CTGGTGGAGGTCTCCAGGAATCTGGGGAAGGTCGGATCTAAGTGCTGTAAACACCCAGAG
 GCAAAACGCATGCCCTGCGCCGAAGACTACCTGTCCGTGGTCCTGAATCAGCTGTGTGTGC
 TGCATGAGAAGACCCCTGTGTCTGATCGAGTCACCAAATGCTGTACAGAAAGTCTGGTGAA
 CCGGAGACCCTGCTTTTCTGCCCTGGAGGTGGACGAAACATATGTCCCTAAGGAGTTCAAT
 GCCGAAACATTCACTTTTCACGCTGATATCTGTACACTGTCCGAGAAGGAACGCCAGATTA
 AGAAACAGACTGCTCTGGTGGAGCTGGTCAAGCATAAACCAAAGGCAACCAAGGAACAGC
 TGAAAGCCGTGATGGACGATTTTCGCAGCCTTTGTGCGAGAAGTGCTGTAAAGCCGACGATAA
 GGAAACTTGTTCGCCGAGGAAGGCAAAAACTGGTCGCAGCATCACAGGCAGCACTGGG
 ACTGTGAGGATCC

18. SEQ ID NO: 108 (Proteína de Construcción base # 7)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSG
 SRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGE
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADS
 VKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSGGSG
 GSGSGSGSGSVVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCCEL
 FEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVV
 LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKE
 RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQA
 ALGL

19. SEQ ID NO: 109 (Construcción base # 8)

TCCGTCGTCCTGCTGCTGAGACTGGCTAAGACCTACGAGACCACACTGGAAAAATGCTGTG
 CCGCTGCAGACCCCCACGAGTGCTATGCCAAGGTGTTTCGATGAGTTCAAGCCTCTGGTCGA
 GGAACCACAGAACCTGATCAAGCAGAATTGTGAGCTGTTTGAACAGCTGGGCGAGTACAA
 ATTTCAGAACGCCCTGCTGGTGAGGTATACAAAGAAAGTGCCCCAGGTCTCTACACCTACT
 CTGGTGGAGGTCAGTAGGAATCTGGGCAAGGTCGGGTCAAAATGCTGTAAAGCACCAGAG
 GCCAAACGCATGCCCTGCGCTGAAGACTACCTGTCTGTGGTCCTGAACCAGCTGTGTGTGC
 TGCATGAGAAGACCCCTGTGAGCGATCGAGTCACCAAATGCTGTACAGAAAGCCTGGTGA

ATCGGAGACCCTGCTTTTCCGCTCTGGAGGTGGACGAAACATATGTCCCTAAGGAGTTCAA
TGCAGAAACCTTCACATTTACGCCGATATCTGTACTCTGTCCGAGAAGGAACGCCAGATT
AAGAAACAGACCGCCCTGGTGGAGCTGGTCAAGCATAAACCAAAGGCTACTAAGGAACAG
CTGAAAGCAGTGATGGACGATTTTCGCCGCTTTTGTCTGAGAAATGCTGTAAGGCAGACGATA
AGGAAACCTGCTTTGCCGAGGAAGGCAAGAACTGGTGGCAGCCAGCCAGGCTGCACTGG
GACTGGGAGGGTCCGGAGGCTCTGGAGGAAGTGGAGGGTCAGGAGGCGACATCCAGATG
ACACAGAGCCCAAGCTCCCTGTCAGCAAGCGTGGGCGACCGAGTCACTATTACCTGTCGG
GCCTCCAGGATGTGAATACTGCAGTCGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGAAAGGCTCCC
AACTGCTGATCTACTCCGCATCTTTCTGTATAGCGGCGTGCCATCCAGGTTTAGTGGATC
ACGCAGCGGCACAGACTTCACACTGACTATTTCTAGTCTGCAGCCCGAGGATTTTGCCACT
TACTATTGCCAGCAGCACTATACTACCCCCCTACCTTCGGACAGGGCACAAAGGTGGAGA
TCAAGGGAGGATCTGGAGGAGGAAGTGGAGGAGGATCAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGC
AGCGGAGAGGTGCAGCTGGTCAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGGAGGGTCTCTG
CGACTGAGTTGTGCCGCTTCAGGCTTTAACATCAAGGACACCTACATTCATTGGGTGCGGC
AGGCACCTGGGAAGGGACTGGAGTGGGTGCTAGAAATCTATCCAATAATGGGTACACCA
GATATGCCGACAGCGTGAAGGGAAGGTTACCATTAGCGCCGATACATCCAAAAACACTG
CTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCTGAGGATACAGCAGTGTACTATTGCAGTCGATG
GGGCGGCGATGGGTTCTACGCAATGGACTACTGGGGACAGGGGACTCTGGTCACCGTCAG
CAGCTGAGGATCC

20. SEQ ID NO: 110 (Proteína de Construcción base # 8)

SVVLLLRLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQ
NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEK
TPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVE
LVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFEEGKKLVAASQAALGLGGSGGSG
GSGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYS
GVPSRFSGSRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGSGGSGGSGG
GSGGSGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNG
YTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVT
VSS

5

21. SEQ ID NO: 111 (Construcción base # 9)

TCAAGCGAACTGACTCAGGACCCCGCTGTGAGCGTCGCACTGGGACAGACTGTGCGGATC
ACCTGCCAGGGGGACTCCCTGAGATCTTACTATGCCTCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGCC
AGGCTCCCGTGCTGGTCATCTATGGCAAGAACAATAGACCTTCCGGGATTCCAGATAGGTT
TTCTGGAAGCTCCTCTGGCAACACAGCTAGCCTGACCATTACAGGAGCCCAGGCTGAGGAC
GAAGCAGATTACTATTGCAACTCCAGGGACAGTTCAGGCAATCACGTGGTCTTCGGCGGGG
GAACAAAGCTGACTGTGGGAGGAGGATCAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGCAGCGGAGGA
GGATCTGGAGGAGGAAGTGGAGAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGAGTGGTCAG
GCCTGGAGGGTCACTGCGACTGAGCTGTGCCGCTTCCGGATTACATTTGACGATTACGGA
ATGTCTTGGGTCCGGCAGGCACCAGGAAAGGGACTGGAGTGGGTGAGTGGCATCAACTGG
AATGGAGGCTCTACAGGGTACGCTGATAGTGTGAAAGGACGCTTTACTATTAGTCGAGACA
ACGCCAAGAACAGCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGATACTGCTGTGT
ACTATTGTGCCAGGGGCCGCTCCCTGCTGTTGCTACTGGGGGCAGGGAACCCCTGGTGAC
AGTCTCTAGGGGGGGAAGTGGCGATGCTCACAAGAGCGAGGTCGCACATCGCTTCAAAGA
CCTGGGGGAGGAAAATTTAAGGCCCTGGTGCTGATCGCATTCGCCCAGTATCTGCAGCAG
TGCCCTTTTGAAGACCACGTGAAACTGGTCAACGAGGTGACCGAGTTCGCCAAGACATGC
GTGGCAGACGAGTCCGCCGAAAATTGTGATAAATCTCTGCATACTCTGTTTGGGGATAAGC
TGTGTACTGTGGCCACCCTGCGGGAGACCTACGGAGAAAATGGCTGACTGCTGTGCAAAAC
AGGAGCCAGAAAGAAACGAGTGCTTCCTGCAGCACAAGGACGATAACCCCAATCTGCCTC
GACTGGTGCGGCCCCGAAGTGGACGTCATGTGTACTGCCTTCCACGATAATGAGGAAACCTT
TCTGAAGAAATACCTGTATGAGATTGCCCGGAGACATCCCTACTTTTATGCCCTGAACTG
CTGTTCTTTGCTAAGCGGTACAAAGCAGCCTTCACCGAGTGCTGTCAGGCTGCAGATAAGG
CCGCTTGCCTGCTGCCAAAACCTGGACGAGCTGCGAGATGAAGGGAAAGCTAGCTCCGCAA
AGCAGAGACTGAAATGTGCAAGCCTGCAGAAGTTCGGCGAGAGGGCCTTTAAAGCTTGGG
CAGTGGCCAGACTGAGCCAGAGGTTCCTCAAGGCCGAGTTTGCTGAAGTCTCAAGCTGGT
GACAGACCTGACTAAAGTGCACACCGAGTGCTGTCATGGCGACCTGCTGGAATGCGCCGA
CGATCGCGCAGATCTGGCCAAATACATCTGTGAGAACCAGGACTCTATTTCTAGTAAGCTG
AAAGAGTGCTGTGAAAAGCCTCTGCTGGAGAAAAGCCACTGCATCGCTGAGGTGGAAAAC
GACGAAATGCCCGCAGATCTGCCTAGTCTGGCAGCCGACTTTGTGAGTCAAAGGATGTGT

GTAAAAATTATGCTGAAGCAAAGGATGTGTTCTGGGCATGTTTCTGTACGAGTATGCACG
 AGCTGGAGGGAGTGGAGGCTCAGGAGGAAGCGGCGGGTCCGGAGGCTCAAGCGAACTGA
 CCCAGGACCCCGCCGTGTCTGTCTGCTCTGGGACAGACAGTGAGGATCACTTGCCAGGGCG
 ACTCTCTGCGCAGTTACTATGCAAGTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCCAGGCCCCCTGTCCT
 GGTCATCTATGGCAAGAATAATCGCCCTAGTGGGATTCCAGATCGATTTTCAGGGTCCTCT
 AGTGGAACACAGCTTCTCTGACTATTACCGGCGCACAGGCCGAGGACGAAGCCGATTAC
 TATTGCAACAGCAGAGACTCAAGCGGCAATCATGTGGTCTTCGGAGGAGGAACCAAGCTG
 ACAGTGGGAGGAGGCTCAGGCGGCGGCAGCGGAGGAGGCTCCGGGGGAGGCTCTGGAGG
 AGGCAGTGGAGAGGTCCAGCTGGTGAATCCGGAGGAGGAGTGGTCCGACCAGGAGGATC
 ACTGAGACTGTCCTGTGCTGCATCCGGATTACCTTCGATGATTACGGAATGAGCTGGGTC
 AGGCAGGCACCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCGGCATCAACTGGAATGGCGGGTCA
 ACCGGGTACGCTGATAGCGTGAAAGGACGGTTCACAATTAGCAGGGATAATGCTAAGAAC
 AGCTTATATCTGCAAATGAACAGCCTG**CG**CGCAGAGGACACAGCCGTGTACTATTGCGCC
 CGGGGGCGGAGCCTGCTGTTTGATTACTGGGGGCAGGGCACACTGGTGACCGTCTCTCGGT
 GAGGATCC

22. SEQ ID NO: 112 (Proteína de Construcción base # 9)

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGS
 SSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHVVFGGGTKLTVGGSGGGSGGGSGGGSGGG
 SGEVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMSSWRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTG
 YADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRSLFDYWGQGTLVTVSRGGSG
 DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIIFAQYLQCPFHVHKLVEVTEFAKTCVADESAENC
 DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFQHKDDNPPLRVRPEVDVMC
 TAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPPELLFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRD
 EGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGD
 LLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECKEPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESK
 DVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARAGGSGGSGGSGGSGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQG
 DSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC
 NSRDSSGNHVVFGGGTKLTVGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGGGVVRPGGSLRLS
 CAASGFTFDDYGMSSWRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ
 MNSLRAEDTAVYYCARGRSLFDYWGQGTLVTVSR

5

23. SEQ ID NO: 113 (Construcción base # 10)

AGTAGCGAACTGACCCAGGACCCCGCAGTGAGCGTCGCACTGGGGCAGACAGTGAGAATC
ACTTGCCAGGGAGATTCTCTGAGGAGTTACTATGCCTCCTGGTACCAGCAGAAACCCGGCC
AGGCTCCTGTGCTGGTCATCTATGGGAAGAACAATAGGCCAAGCGGCATCCCCGACCGCTT
CTCCGGCAGCTCCTCTGGGAACACAGCTAGCCTGACTATTACCGGCGCTCAGGCAGAGGAC
GAAGCAGATTACTATTGCAACTCCAGGGATAGTTTCAGGCAATCACGTGGTCTTTGGCGGGG
GAACAAAGCTGACTGTGGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGCAGCGGAGGGGGATCTGGAGGA
GGAAGTGGAGGAGGATCAGGAGAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGAGTGGTCCG
CCCTGGAGGGAGCCTGCGACTGTCCTGTGCCGCTTCTGGCTTACCTTTGACGATTACGGA
ATGAGCTGGGTGCGGCAGGCACCAAGGAAGGGACTGGAGTGGGTGTCCGGCATCAACTGG
AATGGAGGCTCCACAGGATACGCAGACTCTGTGAAAGGCCGATTCACTATTTCTCGGGATA
ACGCCAAGAATAGTCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCAGTGT
ACTATTGTGCCAGGGGCCGCAGCCTGCTGTTTGATTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTGAC
AGTCTCCAGGGGAGGATCAGGAGGGAGCGGAGGCTCCGGAGGATCTGGAGGGAGTGTGGT
CCTGCTGCTGCGACTGGCTAAAACCTACGAGACCACACTGGAAAAGTGCTGTGCAGCCGCT
GACCCTCATGAGTGCTATGCCAAAGTGTTTCGATGAGTTCAAGCCACTGGTCGAGGAACCCC
AGAACCTGATCAAACAGAATTGTGAGCTGTTTCGAACAGCTGGGCGAGTACAAGTTTCAGA
ACGCCCTGCTGGTGCGCTATACCAAGAAAGTGCCTCAGGTCAGCACACCAACTCTGGTGGA
AGTCTCCCGGAATCTGGGGAAAGTGGGATCTAAATGCTGTAAGCACCCCGAGGCTAAGAG
AATGCCTTGCGCAGAAGACTACCTGTCTGTGGTCCTGAACCAGCTGTGTGTGCTGCATGAG
AAAACCCAGTGAGCGATAGGGTCACCAAGTGTGTACAGAAAGTCTGGTGAACCGGAGA
CCATGCTTCTCAGCCCTGGAGGTGGACGAAACATATGTCCCCAAAGAGTTTAATGCCGAAA
CCTTCACATTTACGCTGATATCTGTACTCTGTCCGAGAAGGAACGCCAGATTAAGAAACA
GACCGCCCTGGTGGAGCTGGTCAAGCATAAACCCAAGGCAACAAAAGAACAGCTGAAGGC
CGTGATGGACGATTTTCGCAGCCTTTGTGCGAGAAATGCTGTAAGGCTGACGATAAGGAAACT
TGCTTCGCAGAGGAAGGAAAGAAACTGGTGGCTGCAAGCCAGGCAGCTCTGGGACTGGGA
GGCTCAGGAGGAAGCGGCGGGTCCGGAGGCTCTGGGGGAAGCTCCGAGCTGACCCAGGAC
CCAGCCGTGTCTGTGCTCTGGGCCAGACTGTGCGCATCACCTGTCAGGGGGATAGTCTGC
GATCATACTATGCAAGTTGGTATCAGCAGAAACCTGGCCAGGCCCCAGTCCTGGTCATCTA
TGGGAAGAATAATCGACCTTCCGGCATCCCCGACCGGTTCTCCGGATCTAGTTCAGGCAAC
ACAGCCTCTCTGACTATTACCGGCGCCCAGGCTGAGGACGAAGCTGATTACTATTGCAACA

GCAGGGATAGCTCCGGAAACCACGTGGTCTTTGGAGGAGGAACTAAGCTGACCGTGGGAG
GAGGAAGTGGCGGGGGATCAGGCGGCGGAAGCGGCGGCGGCAGCGGAGGAGGATCTGGC
GAAGTGCAGCTGGTCGAATCTGGCGGAGGAGTGGTCCGGCCAGGAGGGAGTCTGAGACTG
TCATGTGCAGCCAGCGGCTTCACATTCGATGATTACGGAATGTCTTGGGTGCGGCAGGCAC
CTGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGAGTGGCATCAACTGGAACGGGCGGCAGTACCGGATACG
CTGACTCAGTGAAAGGCAGATTACAATTTCTAGAGACAATGCTAAGAATAGTTTATATCT
GCAAATGAACAGCCTGAGAGCAGAGGACACTGCCGTGTACTATTGCGCCCGGGGAGGTC
ACTGCTGTTTCGATTACTGGGGGCAGGGCACTCTGGTCACTGTGTCAAGGTGAGGATCC

24. SEQ ID NO: 114 (Proteína de Construcción base # 10)

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGS
SSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHVVFGGGTKLTVGGGSGGGSGGGSGGGSGGG
SGEVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTG
YADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRSLLFDYWGQGLTVTVSRGGSG
GSGGSGGGSGGSVLLLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCCEL
FEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVV
LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKE
RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQA
ALGLGGSGGGSGGGSGGSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPV
LVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHVVFGGGTKLTVG
GGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMSWVRQAP
GKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRSLL
FDYWGQGLTVTVSR

5

25. SEQ ID NO: 115 (Construcción base # 11)

GATATTCAGATGACTCAGTCTCCTAGCTCCCTGTCAGCTAGCGTCGGCGATCGGGTGACAA
TCACTTGCAGAGCCAGCCAGGACGTCAACACAGCCGTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCCG
GAAAAGCACCTAAGCTGCTGATCTACTCCGCCTCTTTTCTGTATTCTGGCGTGCCCACTAGA
TTCAGTGGATCAAGGAGCGGCACCGATTTTACCCTGACAATCTCTAGTCTGCAGCCTGAGG
ACTTTGCCACATACTATTGCCAGCAGCACTATACCACACCCCTACTTTTCGGGCAGGGAAC
CAAGGTGGAAATCAAAGGCGGGTCAGGCGGAGGGAGCGGAGGAGGGTCCGGAGGAGGGT
CTGGAGGAGGGAGTGGAGAGGTGCAGCTGGTCAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAG
GAGGCTCACTGCGGCTGAGCTGTGCCGCTTCCGGCTTCAACATCAAAGATACCTACATTCA
TTGGGTCCGACAGGCACCAGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGGCTAGAATCTATCCCACCAA
TGGCTACACACGATATGCCGATAGCGTGAAAGGGCGGTTTACAATTTCTGCAGACACTAGT
AAGAACACCCGCTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCTGAGGACACTGCAGTGTACTAT
TGTAAGTCGATGGGGGGGAGACGGCTTCTACGCCATGGATTATTGGGGACAGGGCACCCCTG
GTGACAGTCTCAAGCGGAGGGTCCGGCGATGCACACAAGTCTGAGGTCGCTCATAGATTC
AAAGACCTGGGGGAGGAAAATTTTAAGGCCCTGGTGTGATTGCATTGCCCCAGTACCTGC
AGCAGTGGCCCTTTGAAGACCACGTGAACTGGTCAACGAGGTGACAGAGTTCCGCAAGA
CTTGCGTCGCCGACGAGAGTGTGAAAAATTGTGATAAATCACTGCATACACTGTTTGGGGA
TAAGCTGTGTACTGTGGCCACCCTGCGGGAGACTTATGGAGAAATGGCAGACTGCTGTGCC
AAACAGGAGCCTGAAAGAAACGAGTGCTTCCTGCAGCACAAGGACGATAACCCTAATCTG
CCAAGGCTGGTGCGCCCAGAAGTGGACGTCATGTGTACTGCCTTCCACGATAATGAGGAA
ACCTTTCTGAAGAAATACCTGTATGAGATCGCCCGGAGACATCCCTACTTTTATGCTCCTGA
ACTGCTGTTCTTTGCAAAACGGTACAAGGCAGCCTTCACCGAGTGCTGTCAGGCTGCAGAT
AAGGCCGCTTGCTGCTGCCCAAAGTGGACGAGCTGCGGGATGAAGGCAAGGCTTCCTCT
GCAAAGCAGAGACTGAAATGTGCAAGCCTGCAGAAGTTCGGGGAGAGGGCCTTTAAAGCT
TGGGCAGTCGCACGACTGAGCCAGCGATTCCCTAAGGCCGAGTTTGCTGAAGTCTCCAAGC
TGGTGACAGACCTGACTAAAGTGCACACCGAGTGCTGTCATGGCGACCTGCTGGAATGCG
CCGACGATCGCGCAGATCTGGCCAAGTACATCTGTGAGAACCAGGACAGCATTAGTTCAA
AGCTGAAAGAGTGCTGTGAAAAGCCACTGCTGGAGAAATCCCACTGCATTGCTGAGGTGG
AAAACGACGAAATGCCAGCAGATCTGCCAGCCTGGCAGCCGACTTCGTCGAGTCCAAGG
ATGTGTGTAAAAATTATGCTGAAGCAAAGGATGTGTTCTGGGCATGTTTCTGTACGAGTA
TGCCAGGGCTGGAGGCAGTGGAGGATCAGGAGGGAGCGGAGGCTCCGGAGGAGACATCC

AGATGACCCAGAGCCCAAGCTCCCTGTCCGCTTCTGTGCGCGATAGGGTGACTATTACCTG
CCGCGCCTCCCAGGACGTCAATACAGCAGTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGGAAGGC
TCCAAAACCTGCTGATCTACAGTGCATCATTCTGTATTACAGGAGTGCCAAGCCGCTTTAGC
GGGTCCCGATCTGGAACGATTTACACTGACTATCTCTAGTCTGCAGCCCGAGGACTTTG
CCACCTATTACTGCCAGCAGCACTACACTACCCACCCACCTTCGGGCAGGGAACAAAGGT
GGAAATCAAAGGGGGGTCCGGCGGCGGGTCTGGCGGAGGGAGTGGAGGAGGGTCAGGCG
GCGGGAGCGGCGAGGTCCAGCTGGTGGAAATCCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCTGGAGGCT
CCCTGCGACTGTCTTGTGCTGCAAGTGGCTTTAACAATCAAGGACACTTACATTATTGGGTC
AGGCAGGCTCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGGCACGAATCTATCCAACAAATGGATAC
ACTAGGTACGCCGATAGCGTGAAAGGCAGGTTACCATTTTCAGCCGACACCAGCAAGAAC
ACAGCTTACCTGCAAATGAACAGCCTGAGGGCTGAGGACACAGCAGTGTACTATTGCAGC
CGCTGGGGCGGGGACGGGTTCTATGCTATGGACTATTGGGGGCAGGGCACTCTGGTCACTG
TGTCAGCTGAGGATCC

26. SEQ ID NO: 116 (Proteína de Construcción base # 11)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSG
SRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGE
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADS
VKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSGGSG
DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQPCFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENC
DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMC
TAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRD
EGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTQVHTECCHGD
LLECADRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESK
DVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARAGSGGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITICR
ASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA
SGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR
AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSS

5

27. SEQ ID NO: 117 (Construcción base # 12)

GACATTCAGATGACTCAGAGCCCAAGCTCCCTGAGCGCATCCGTGGGCGACAGAGTCACC
 ATCACATGCAGGGCCTCCCAGGATGTGAACACCGCTGTCGCATGGTACCAGCAGAAACCT
 GGAAGGCTCCAAAAGTCTGATCTACTCTGCAAGTTTCCTGTATAGTGGAGTGCCATCAA
 GGTTTTCAGGCAGCCGCTCCGGGACCGACTTCACTCTGACCATCTCTAGTCTGCAGCCCGA
 GGATTTGCCCACATACTATTGCCAGCAGCACTATACCACACCCCCTACCTTTGGCCAGGGG
 AAAAAAGTGGAAATTAAGGGAGGGAGCGGAGGAGGGTCCGGAGGAGGGTCTGGAGGCGG
 GAGTGGAGGAGGGTCAGGAGAGGTGCAGCTGGTCAATCCGGAGGAGGACTGGTGCAGC
 CAGGAGGCAGCCTGCGGCTGTCCTGTGCCGCTTCTGGCTTCAACATCAAAGACACCTACAT
 TCATTGGGTGCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGACTGGAGTGGGTGCGACGAATCTATCCCAC
 TAATGGGTACACCCGGTATGCCGATTCCGTGAAAGGAAGATTCACAATTAGTGCAGATACA
 TCAAAGAACTGCCTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCAGAGGATACTGCCGTGTAC
 TATTGTAGTCGGTGGGGGGGAGACGGCTTTTACGCCATGGATTATTGGGGGCAGGGAACCC
 TGGTGACAGTCTCAAGCGGAGGGTCAGGAGGCAGCGGAGGCAGCGGAGGGTCTGGAGGC
 AGTGTGGTCCCTGCTGCTGAGGCTGGCTAAAACCTACGAGACTACCCTGGAAAAGTGTGTG
 CAGCCGCTGACCCCCACGAGTGCTATGCCAAAGTGTTGATGAGTTCAAGCCACTGGTCTGA
 GGAACCCCAAGAACCTGATCAAACAGAATTGTGAGCTGTTGCAACAGCTGGGCGAGTACAA
 GTTTTCAAGCGCCCTGCTGGTGGCTATACCAAGAAAGTGCCTCAGGTCTCTACACCAACT
 CTGGTGGAGGTCAGTAGGAATCTGGGGAAAGTGGGATCAAAGTGTGTAAACACCCCGAG
 GCCAAGCGCATGCCTTGGCTGAAGACTACCTGTCTGTGGTCCCTGAACCAGCTGTGTGTGC
 TGCATGAGAAAACCCCGTGAGCGATCGGGTCACCAAGTGCTGTACAGAAAGCCTGGTGA
 ACCGGAGACCCTGCTTCTCCGCTCTGGAGGTGGACGAAACATATGTCCCTAAGGAGTTTAA
 TGCTGAAACCTTACATTTACGCAGATATCTGTACACTGTCCGAGAAGGAAAGACAGATT
 AAGAAACAGACTGCCCTGGTGGAGCTGGTCAAGCATAAACCTAAGGCCACAAAAGAACAG
 CTGAAGGCTGTGATGGACGATTTTCGCAGCCTTTGTCGAGAAGTGCTGTAAAGCCGACGATA
 AGGAAACTTGCTTCGCTGAGGAAGGAAAGAAACTGGTGGCTGCAAGCCAGGCAGCTCTGG
 GCCTGGGAGGATCAGGAGGGAGCGGAGGCTCCGGAGGATCTGGAGGGGACATCCAGATG
 ACCCAGTCTCCTTCTCTGTCTGCTAGTGTGGGCGACCGCGTCACTATTACCTGTGCGAGC
 CAGCCAGGATGTGAATACAGCCGTCGCTTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAAGCACCTAA
 GCTGCTGATCTACTCAGCCAGCTTTCTGTATAGCGGGTGCCTTCCCGATTCTCCGGATCTC
 GGAGTGGCACTGACTTTTACACTGACTATCAGTTCACTGCAGCCAGAGGATTTGCCACCTA

TTACTGCCAGCAGCACTACACAACTCCACCCACTTTTGGCCAGGGGACCAAAGTGGAATC
AAGGGAGGCTCTGGAGGAGGCAGTGGAGGAGGCTCAGGAGGAGGCAGCGGAGGAGGCTC
CGGCGAAGTGCAGCTGGTCGAATCTGGCGGCGGCCTGGTCCAGCCAGGAGGATCTCTGAG
GCTGAGTTGTGCAGCCTCAGGCTTCAACATCAAGGATACTTACATTCATTGGGTGCGGCAG
GCACCTGGAAAGGGCCTGGAATGGGTCGCTAGAATCTATCCAATAATGGCTACACCAGA
TATGCCGACAGCGTGAAAGGGCGCTTTACCATTAGCGCAGATACATCCAAAATACCGCTT
ACCTGCAGATGAATAGCCTGAGAGCTGAGGATACAGCAGTGTACTATTGCTCCAGATGGG
GCGGCGATGGGTTTTACGCAATGGACTACTGGGGACAGGGAACACTGGTCACCGTCTCTTC
TTGAGGATCC

28. SEQ ID NO: 118 (Proteína de Construcción base # 12)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSG
SRSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGE
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADS
VKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSGGSG
GGSGSGSGSGSVVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCCEL
FEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVV
LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKE
RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFEEGKKLVAASQA
ALGLGGSGSGSGSGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVNTAVAWYQQKPGKAP
KLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGS
GGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGL
EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYA
MDYWGQGLTVTVSS

5

29. SEQ ID NO: 119 (Construcción base # 13)

AGTTCTGAGCTGACCCAGGACCCCGCTGTGAGCGTCGCACTGGGACAGACAGTGCGGATC
 ACTTGCCAGGGCGACAGCCTGAGATCCTACTATGCTAGCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGCC
 AGGCACCAGTGCTGGTCATCTATGGAAAAACAATAGACCCAGCGGCATTCTGATAGGTT
 CTCCGGGAGCTCCTCTGGAAACACAGCTAGCCTGACTATTACCGGCGCCCAGGCTGAGGAC
 GAAGCCGATTACTATTGCAACAGCAGGGACAGTTCAGGGAATCACGTGGTCTTTGGAGGA
 GGAATAAGCTGACCGTGGGAGGAGGCAGCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAAGTGGAGG
 AGGATCAGGAGGAGGAAGCGGAGAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGAGTGGTCA
 GGCCAGGAGGGTCCCTGCGACTGTCTTGTGCCGCTAGTGGGTTCACCTTTTGACGATTACGG
 AATGAGTTGGGTGAGGCAGGCACCAGGAAAGGGACTGGAGTGGGTGAGCGGCATCAACTG
 GAATGGAGGCAGTACAGGCTACGCTGATTCAAGTGAAGGGGCGCTTCACTATTTCTCGAGAC
 AACGCCAAAAATAGTCTGTATCTGCAGATGAAGTCACTGCGCGCCGAGGATACAGCTGTGT
 ACTATTGCGCCAGGGGCCGCTCCCTGCTGTTTGACTACTGGGGGCAGGGAACACTGGTGAC
 TGTCTCACGGGGGGGAAGCGGAGATGCACACAAATCTGAGGTCGCCCATAGATTCAAGGA
 CCTGGGCGAGGAAAAATTTAAAGCCCTGGTGCTGATCGCATTCGCCCAGTATCTGCAGCAG
 TGCCCTTTGGAAGACCACGTGAAGCTGGTCAACGAGGTGACAGAATTTGCCAAAACCTTGCG
 TCGCAGACGAGAGCGCCGAAAATTTGTGATAAGTCCCTGCATACCCTGTTTCGGCGATAAACT
 GTGTACCGTGGCCACACTGAGGGAGACATACGGGGAAATGGCTGACTGCTGTGCAAAGCA
 GGAGCCCGAACGCAACGAGTGCTTTCTGCAGCACAAAGACGATAACCCAAATCTGCCCCG
 ACTGGTGCGGCCTGAAGTGGACGTCATGTGTACTGCCTTCCACGATAATGAGGAAACCTTT
 CTGAAGAAATACCTGTATGAGATTGCCCCGAGACATCCCTACTTCTATGCTCCTGAACTGC
 TGTCTTTTGCAAAGCGGTACAAAGCAGCCTTTACCGAGTGCTGTCAGGCTGCAGATAAAGC
 CGCTTGCTGCTGCCTAAGCTGGACGAGCTGAGGGATGAAGGCAAGGCTAGCTCCGCAA
 ACAGCGCCTGAAGTGTGCTAGCCTGCAGAAATTCGGCGAGCGGGCCTTCAAGGCTTGGGC
 AGTGGCCAGACTGTACAGAGGTTCCCAAAGGCCGAGTTTGCTGAAGTCAGCAAACCTGGT
 GACTGACCTGACCAAGGTGCACACCGAGTGCTGTGATGGCGACCTGCTGGAATGCGCCGA
 CGATAGAGCAGATCTGGCCAAGTACATCTGTGAGAACCAGGACTCCATTTCTAGTAAGCTG
 AAAGAGTGCTGTGAAAAACCCCTGCTGGAGAAGTCTCATTGCATCGCCGAGGTGGAAAAC
 GACGAAATGCCAGCTGATCTGCCCTCTCTGGCAGCCGACTTCGTCGAGAGTAAAGATGTGT
 GTAAGAATTATGCTGAAGCAAAGGATGTGTTCTGGGCATGTTTCTGTACGAGTATGCACG
 AGCTGGAGGGTCTGGAGGCAGTGGAGGATCAGGAGGGAGCGGAGGCGACATCCAGATGA

CCCAGTCCCCTTCAAGCCTGAGTGCTTCAGTCGGCGATCGAGTGACAATTACTTGCCGGGC
 CTCTCAGGACGTCAATACAGCAGTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGGAAAGCACCAAA
 GCTGCTGATCTACAGCGCCTCCTTTCTGTATTCCGGAGTGCCTTCTCGGTTCTCTGGCAGTA
 GATCAGGGACTGATTTTACCCTGACAATTTCTCTCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACCTA
 CTATTGCCAGCAGCACTATACCACACCCCTACCTTTGGCCAGGGGACAAAAGTGGAATC
 AAGGGGGGAAGTGGCGGGGATCAGGCGGCGGAAGCGGCGGCGGCAGCGGCGGCGGATC
 TGGAGAGGTCCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGAGTCTGA
 GACTGTCATGTGCTGCAAGCGGCTTCAACATCAAGGATACCTACATTCACTGGGTACAGCA
 GGCCCCAGGAAAAGCCTGGAGTGGGTGGCCCGCATCTATCCACCAATGGGTACACACG
 CTATGCCGATTCCGTGAAGGGACGATTACAATTTCCGCCGACACTTCTAAAAACACCGCT
 TACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAGGACACTGCTGTGTACTATTGTTCTAGATGGG
 GCGGGGACGGGTTTTACGCAATGGACTACTGGGGGCAGGGGACTCTGGTCACTGTCAGCA
 GCTGAGGATCC

30. SEQ ID NO: 120 (Proteína de Construcción base # 13)

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGS
 SSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHVVFGGGKLTVGGGSGGGSGGGSGGGSGGG
 SGEVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTG
 YADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRSLFDYWGQGLTVTSRGGSG
 DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQPCFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENC
 DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFQHKDDNPPLRLVRPEVDVMC
 TAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRD
 EGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTQVHTECCHGD
 LLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESK
 DVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARAGSGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITCR
 ASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLPEDFATYYC
 QQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA
 SGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR
 AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSS

5

31. SEQ ID NO: 121 (Construcción base # 14)

GACATTCAGATGACCCAGTCCCCAAGCTCCCTGTCTGCTAGTGTCGGCGATCGGGTGACTA
TCACCTGCAGAGCCTCTCAGGACGTCAACACAGCCGTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCTG
GCAAAGCACCAAAGCTGCTGATCTACTCAGCCAGCTTTCTGTATAGCGGGGTGCCTTCCAG
ATTCTCCGGCTCTAGGAGTGGGACTGATTTTACACTGACTATCTCTAGTCTGCAGCCAGAG
GACTTCGCCACCTACTATTGCCAGCAGCACTATAACCACACCCCCTACATTTGGGCAGGGAA
CTAAAGTGGAATTAAGGGAGGGTCTGGAGGAGGGAGTGGAGGAGGGTCAGGCGGAGGG
AGCGGAGGAGGGTCCGGCGAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCC
TGGAGGCTCTCTGAGGCTGAGTTGTGCCGCTTCAGGCTTCAACATCAAGGATACCTACATT
CATTGGGTCCGACAGGCTCCAGGCAAAGGGCTGGAGTGGGTGGCAAGAATCTATCCCACA
AATGGCTACACTAGATATGCCGATAGCGTGAAGGGGAGGTTTACAATTAGCGCTGACACC
TCCAAAAACACAGCATACCTGCAGATGAATAGTCTGCGGGCTGAGGACACTGCAGTGTAC
TATTGTAGCAGATGGGGGGGAGACGGCTTTTACGCCATGGATTATTGGGGACAGGGCACTC
TGGTGACCGTCTCAAGCGGAGGGAGCGGGGATGCACACAAATCCGAGGTGCGCCATCGCT
TCAAGGACCTGGGAGAGGAAAATTTTAAAGCCCTGGTGTGATTGCATTCGCCCAGTACCT
GCAGCAGTGCCCTTCGAAGACCACGTGAAGCTGGTCAACGAGGTGACCGAATTTGCCAA
AACATGCGTCGCGGACGAGTCAGCTGAAAATTGTGATAAGAGCCTGCATACCCTGTTCCGA
GATAAACTGTGTACAGTGGCCACTCTGAGGGAGACATATGGCGAAATGGCAGACTGCTGT
GCCAAGCAGGAGCCCGAACGCAACGAGTGCTTTCTGCAGCACAAAGACGATAACCCAAAT
CTGCCCAGGCTGGTGCGCCCTGAAGTGGACGTCATGTGTACTGCCTTCCACGATAATGAGG
AAACCTTTCTGAAGAAATACCTGTATGAGATCGCCCGGAGACATCCCTACTTCTATGCCCC
TGAAGTGTGTTCTTTGCTAAACGGTACAAGGCAGCCTTTACCGAGTGCTGTCAGGCTGCA
GATAAAGCCGCTTGCCTGCTGCCTAAGCTGGACGAGCTGAGGGATGAAGGAAAGGCTTCC
TCTGCAAAACAGCGCCTGAAGTGTGCCTCCCTGCAGAAATTCGGCGAGCGGGCTTTTAAGG
CTTGGGCAGTGGCACGACTGTCCCAGCGATTCCCAAAGGCCGAGTTTGCTGAAGTCTCTAA
ACTGGTGACCGACCTGACAAAGGTGCACACCGAGTGCTGTGATGGCGACCTGCTGGAATG
CGCCGACGATAGAGCAGATCTGGCCAAGTACATCTGTGAGAACCAGGACTCCATTAGTTC
AAAGCTGAAAGAGTGCTGTGAAAAACCCCTGCTGGAGAAGTCTCACTGCATCGCAGAGGT
GGAAAACGACGAAATGCCAGCAGATCTGCCTTCCCTGGCAGCAGACTTCGTCGAGTCTAA
AGATGTGTGTAAGAATTATGCTGAAGCAAAGGATGTGTTCCCTGGGCATGTTTCTGTACGAG
TATGCACGAGCTGGAGGCTCAGGAGGAAGCGGAGGGTCCGGAGGCTCTGGGGGAAGCTCC

GAACTGACCCAGGACCCCGCTGTGAGCGTCGCACTGGGACAGACTGTGCGCATTACCTGCC
 AGGGAGACAGTCTGCGATCATACTATGCTTCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCAC
 CCGTGCTGGTCATCTATGGGAAAAACAATCGACCTTCCGGCATCCCCGATCGGTTCTCTGG
 ATCTAGTTCAGGCAACACAGCTAGCCTGACCATCACAGGGGCACAGGCCGAGGACGAAGC
 CGATTACTATTGCAACAGCAGAGACAGCTCCGGCAATCATGTGGTCTTTGGAGGAGGAACT
 AAGCTGACCGTGGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAAGTGGCGGGGGATCAGGAGGAGGAAG
 CGGAGGAGGCAGCGGAGAGGTCCAGCTGGTGGAAGCGGAGGAGGAGTGGTCAGGCCAG
 GAGGGTCTCTGCGACTGAGTTGTGCTGCATCAGGCTTCACTTTTGACGATTACGGAATGAG
 CTGGGTACAGGCAGGCACCAGGGAAGGGACTGGAGTGGGTGAGCGGCATCAACTGGAATG
 GAGGCTCTACAGGATACGCTGATAGTGTGAAGGGCCGCTTCACTATTAGTCGAGACAACGC
 CAAAAATTCAGTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGCGCGCCGAGGACACAGCTGTGTACTAT
 TGCGCCAGAGGAAGGTCACTGCTGTTTGATTATTGGGGGCAGGGCACACTGGTCACCGTCT
 CCCGCTGAGGATCC

32. SEQ ID NO: 122 (Proteína de Construcción base # 14)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSG
 SRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHHYTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGE
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADS
 VKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSGGSG
 DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIIFAQYLQCPFDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENC
 DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFQHKDDNPPLRLVRPEVDVMC
 TAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRD
 EGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTQVHTECCHGD
 LLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECKEPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESK
 DVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARAGSGSGSGSGSGSGSGSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQG
 DSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYGNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC
 NSRDSSGNHVVFGGGTKLTVGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGGGVVRRPGGSLRLS
 CAASGFTFDDYGMSSWRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ
 MNSLRAEDTAVYYCARGRSLFDYWGQGLTVTVSR

5

33. SEQ ID NO: 123 (Construcción base # 15)

TCTTCAGAACTGACCCAGGACCCCGCAGTGAGCGTCGCACTGGGCCAGACCGTGAGAATC
ACATGCCAGGGGGATTCCCTGAGGTCTTACTATGCTAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCC
AGGCACCCGTGCTGGTCATCTATGGCAAAAACAATAGGCCTTCAGGGATTCCAGACCGCTT
TAGCGGAAGCTCCTCTGGCAACACAGCAAGCCTGACAATTACTGGCGCTCAGGCAGAGGA
CGAAGCCGATTACTATTGCAACAGCAGGGATAGTTCAGGCAATCACGTGGTCTTCGGAGG
AGGAACTAAGCTGACCGTGGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAAGTGGCGGGGGATCAGGAG
GAGGAAGCGGAGGAGGCAGCGGAGAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGAGTGGTC
CGCCAGGAGGGTCTCTGCGACTGAGTTGTGCCGCTTCAGGATTACACCTTTGACGATTACG
GAATGTCTGGGTGAGGCAGGCACCAGGGAAGGGACTGGAGTGGGTCTCTGGCATCAACT
GGAATGGAGGCTCTACAGGGTACGCTGACAGTGTGAAGGGACGGTTCACCATTTCCCGGG
ATAACGCCAAAAATTCTCTGTATCTGCAGATGAATAGTCTGCGCGCTGAGGACACCGCAGT
GTACTATTGTGCCAGGGGCCGAGTCTGCTGTTTCGATTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTG
ACTGTCAGCCGAGGAGGAAGTGGAGGGTCAGGAGGCAGCGGAGGCAGCGGAGGGTCTGT
GGTCCTGCTGCTGAGACTGGCTAAGACATACGAGACCACACTGGAAAAATGCTGTGCAGC
CGCTGACCCCCATGAGTGCTATGCCAAGGTGTTTCGATGAGTTCAAGCCACTGGTCGAGGAA
CCCCAGAACCTGATCAAGCAGAATTGTGAGCTGTTTCGAACAGCTGGGCGAGTACAAATTTT
AGAACGCCCTGCTGGTGCGCTATACCAAGAAAGTGCCTCAGGTCTCAACCCCAACACTGGT
GGAGGTCAGCAGGAATCTGGGCAAGGTCGGGTCCAAATGCTGTAAGCACCCCGAGGCAAA
ACGCATGCCTTGCGCCGAAGACTACCTGTCCGTGGTCCTGAACCAGCTGTGTGTGCTGCAT
GAGAAGACACCTGTGTCTGATCGGGTCACTAAATGCTGTACCGAATCTCTGGTGAACCGGA
GACCTTGCTTTAGTGCCCTGGAGGTGGACGAACTTATGTCCCAAAGGAGTTCAATGCTGA
AACTTTTACCTTTCACGCAGATATCTGTACCCTGAGCGAGAAGGAAAGACAGATTAAGAA
ACAGACAGCCCTGGTGGAGCTGGTCAAGCATAAACCAAAGGCCACCAAGGAACAGCTGAA
AGCTGTGATGGACGATTTTCGCAGCCTTTGTGCGAGAAATGCTGTAAGGCTGACGATAAGGAA
ACATGCTTCGCAGAGGAAGGGAAGAACTGGTGGCTGCATCCCAGGCAGCTCTGGGACTG
GGAGGCAGTGGAGGATCAGGAGGGAGCGGAGGCTCCGGAGGAGACATCCAGATGACTCA
GTCCCCAAGCTCCCTGTCAGCAAGCGTGGGCGACCGGGTCACAATTACTTGTAGAGCTTCT
CAGGATGTGAATACCGCCGTCGCTTGGTACCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCCTAAACTG
CTGATCTACTCCGCTTCTTTCTGTATAGCGGAGTGCCATCCCGGTTTCAGCGGGTCAAGGA
GCGGAACTGACTTCACCCTGACAATTTCTAGTCTGCAGCCTGAGGATTTTGCCACCTACTAT

TGCCAGCAGCACTATACTACCCCCCTACTTTTCGGACAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAA
 GGAGGGTCTGGAGGAGGGAGTGGAGGAGGGTCAGGCGGAGGGAGCGGAGGAGGGTCCGG
 CGAAGTCCAGCTGGTCTGAATCCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGGAGGCTCTCTGAGGCT
 GAGTTGTGCAGCCTCAGGCTTTAACATCAAGGACACCTACATTCATTGGGTGCGGCAGGCA
 CCAGGGAAAGGACTGGAGTGGGTGGCCAGAATCTATCCACAAATGGATACACTCGATAT
 GCCGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACAATTAGCGCAGATACCTCCAAAAACACAGCCTAC
 CTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCCGAGGATACTGCTGTGTACTATTGCAGCCGATGGGGC
 GGGGACGGCTTCTACGCTATGGACTATTGGGGGCAGGGGACTCTGGTGACAGTGAGCAGC
 TGAGGATCC

34. SEQ ID NO: 124 (Proteína de Construcción base # 15)

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGS
 SSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHVVFVGGGKLTGVGGSGGGSGGGSGGGSGGG
 SGEVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTG
 YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRSLFDYWGQGLTVTVSRGGSG
 GSGSGGGSGGSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCCEL
 FEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVV
 LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKE
 RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFEEGKKLVAASQA
 ALGLGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAP
 KLLIYSASFYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKEIKGGS
 GGGSGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGL
 EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYA
 MDYWGQGLTVTVSS

5

35. SEQ ID NO: 125 (Construcción base # 16)

GATATTCAGATGACCCAGAGCCCAAGCTCCCTGAGTGCATCAGTGGGCGACAGAGTCACA
 ATCACTTGCAGGGCTAGCCAGGATGTGAACACAGCTGTCGCATGGTACCAGCAGAAACCA
 GGCAAGGCTCCCAAAGTCTGATCTACAGCGCATCCTTCCTGTATCCGGCGTGCCCTCTA
 GGTTTTCTGGGAGTCGCTCAGGAACTGACTTCACCCCTGACAATCTCTAGTCTGCAGCCTGA
 GGATTTTGCCACCTACTATTGCCAGCAGCACTACACCACACCCCCTACTTTCGGCCAGGGG
 ACCAAGGTGGAGATCAAGGGCGGGAGTGGAGGCGGGTCAGGCGGAGGGAGCGGAGGAGG
 GTCCGGAGGAGGGTCTGGCGAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCC
 TGGAGGCAGTCTGCGGCTGTCATGTGCCGCTAGCGGCTTCAACATCAAGGACACCTACATT
 CATTGGGTGCGCCAGGCACCAGGAAAAGGCCTGGAGTGGGTGCGCCGAATCTATCCCACC
 AATGGGTACACAAGATATGCCGACTCCGTGAAGGGACGCTTTACAATTTCCGCTGATACTT
 CTA AAAACACCCGCATACCTGCAGATGAATAGTCTGAGAGCAGAGGATACTGCCGTGTACT
 ATTGTAGCAGATGGGGGGGAGACGGCTTCTACGCCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACTC
 TGGTGACCGTCTCAAGCGGAGGGAGCGGAGGCTCCGGAGGATCTGGAGGGAGTGGAGGCT
 CAGTGGTCCTGCTGCTGAGGCTGGCTAAGACCTACGAGACTACCCTGGAAAAATGCTGTGC
 AGCCGCTGACCCCCACGAGTGCTATGCCAAGGTGTTTCGATGAGTTCAAGCCACTGGTCGAG
 GAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAAATTGTGAGCTGTTTCGAACAGCTGGGCGAGTACAAA
 TTTCAGAACGCCCTGCTGGTGCGCTATACAAAGAAAGTGCCTCAGGTCACTACTCCAACCC
 TGGTGGAAGTCTCACGGAATCTGGGAAAGGTGCGCAGCAAGTGCTGTAAACACCCCGAGG
 CAAAAAGAATGCCTTGCGCCGAAGACTACCTGAGCGTGGTCCTGAATCAGCTGTGTGTGCT
 GCATGAGAAGACACCTGTGAGCGATAGGGTCACAAAATGCTGTACTGAATCCCTGGTGAA
 CCGGAGACCTTGCTTTTTCTGCTCTGGAGGTGGACGAACTTATGTCCCAAAGGAGTTCAAT
 GCCGAAACATTCACTTTTCACGCTGATATCTGTACCCTGAGCGAGAAGGAACGCCAGATTA
 AGAAACAGACAGCCCTGGTGGAGCTGGTCAAGCATAAACCAAAGGCAACTAAGGAACAG
 CTGAAAGCCGTGATGGACGATTTTCGCAGCCTTTGTGCGAGAAGTGCTGTAAAGCCGACGATA
 AGGAAACCTGCTTTGCTGAGGAAGGCAAGAACTGGTGGCTGCAAGCCAGGCAGCTCTGG
 GACTGGGAGGAAGCGGAGGGTCCGGAGGCTCTGGGGGAAGTGGAGGGTCCTCTGAGCTGA
 CCCAGGACCCCGCTGTGTCCGTGCGCACTGGGACAGACCGTGCGAATTACATGTCAGGGCG
 ATTCACTGCGGAGCTACTATGCTTCTTGGTACCAGCAGAAGCCTGGCCAGGCACCAGTGCT
 GGTCACTCTATGGAAAAACAATCGGCCCAGTGGCATTCTGACAGATTTTCAGGCAGTTCA
 AGCGGGAACACCGCATCCCTGACCATCACAGGCGCCAGGCTGAGGACGAAGCCGATTAC

TATTGCAACTCTAGGGATTCTCTGGCAATCATGTGGTCTTCGGAGGCGGGACAAAGCTGA
 CTGTGGGAGGAGGGAGTGGCGGAGGGTCAGGCGGCGGGAGCGGCGGCGGGTCCGGCGGC
 GGGTCTGGAGAAGTGCAGCTGGTTCGAATCCGGAGGAGGAGTGGTCCGCCAGGAGGCAGT
 CTGCGACTGTTCATGTGCAGCCAGCGGGTTACCTTTGACGATTACGGAATGTCCTGGGTGC
 GGCAGGCACCAGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGTCTGGCATCAACTGGAATGGGGGCAGCA
 CAGGCTACGCTGACTCTGTGAAGGGGCGATTCACTATTAGCCGGGATAACGCCAAAAATTC
 CCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACAGCTGTGTACTATTGCGCCAG
 GGGGCGGTCACTGCTGTTTGATTATTGGGGGCAGGGAACCTCTGGTCACTGTCTCTAGGTGA
 GGATCC

36. SEQ ID NO: 126 (Proteína de Construcción base # 16)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSG
 SRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGSGE
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADS
 VKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVTVSSGGSG
 GSGSGSGSGSVVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCCEL
 FEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVV
 LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKE
 RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFEEGKKLVAAASQA
 ALGLGGSGSGSGSGSGSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPV
 LVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHVVFVGGGTCLTVG
 GSGSGSGSGSGSGSGSGSEVQLVESGGGVVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMVSWVRQAP
 GKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRSL
 5 FDYWGQGLVTVSR

37. SEQ ID NO: 127 (Secuencia para v593)

GACATTCAGATGACACAGAGCCCAAGCTCCCTGTCTGCAAGTGTCGGCGATCGAGTGACA
 ATCACTTGCCGGGCTTCCCAGGACGTCAACACTGCCGTGGCTTGGTACCAGCAGAAACCTG
 GGAAGGCCCCAAAACCTGCTGATCTACTCAGCTAGCTTTCTGTATAGCGGAGTGCCCTCCCG
 GTTCTCCGGATCTAGAAGTGGCACCATTATACCTGACAATCTCTAGTCTGCAGCCTGAG
 GACTTCGCCACATACTATTGCCAGCAGCACTATACCACACCCCCTACCTTTGGGCAGGGAA
 CAAAGGTGGAAATCAAAGGAGGGTCTGGAGGAGGGAGTGAGGAGGGTCAGGCGGAGGG
 AGCGGAGGAGGGTCCGGCGAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCC
 TGGAGGCTCTCTGAGGCTGAGTTGTGCCGCTTCAGGCTTCAACATCAAAGATACCTACATT
 CATTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGGCACAATCTATCCCACA
 AATGGATACACTCGGTATGCCGATTCCGTGAAAGGCAGATTCACTATTAGCGCTGACACCT
 CCAAGAACACAGCATACCTGCAGATGAATAGTCTGCGAGCAGAGGACACCGCCGTGTACT
 ATTGCTCACGGTGGGGGGGAGACGGCTTTTACGCCATGGATTATTGGGGACAGGGCACTCT
 GGTGACCGTCTCAAGCGGAGGGAGCGGAGATGCACACAAGTCCGAGGTCGCTCATCGCTT
 CAAAGACCTGGGCGAGGAAAACCTTAAAGGCCCTGGTGTGATTGCATTCGCCCAGTACCTG
 CAGCAGTGCCCATTCGAGGACCACGTGAAACTGGTCAACGAAGTGAATTTGCCAAG
 ACCTGCGTGGCTGACGAGTCAGCAGAAAATTGTGATAAAAGCCTGCATACACTGTTCCGGCG
 ATAAGCTGTGTACAGTGGCCACTCTGAGGGAGACTTATGGGGAAATGGCCGACTGCTGTGC
 TAAACAGGAGCCAGAACGCAACGAGTGCTTTCTGCAGCACAAGGACGATAACCCAAATCT
 GCCCAGACTGGTGAGGCCCCGAAGTGGACGTCATGTGTACAGCCTTCCACGATAATGAGGA
 AACTTTTCTGAAGAAATACCTGTATGAGATCGCTCGGAGACATCCCTACTTCTATGCCCTG
 AACTGCTGTTCTTTGCTAAGAGGTACAAAGCAGCCTTTACCGAGTGCTGTCAGGCTGCAGA
 TAAGGCCGCTTGCCTGCTGCCAAAACCTGGACGAGCTGAGAGATGAAGGCAAGGCATCCTC
 TGCCAAGCAGAGGCTGAAATGTGCCTCCCTGCAGAAGTTCGGGGAGAGGGCTTTTAAAGC
 TTGGGCAGTGGCACGACTGAGCCAGCGATTCCCAAAGGCTGAGTTTGCAGAAGTCTCCAA
 GCTGGTGACCGACCTGACAAAAGTGCACACCGAGTGCTGTGATGGCGACCTGCTGGAATG
 CGCCGACGATCGCGCCGATCTGGCTAAGTACATCTGTGAGAACCAGGACAGCATTAGTTCA
 AAGCTGAAAGAGTGCTGTGAAAAGCCTCTGCTGGAGAAATCCCACTGCATTGCAGAGGTG
 GAAAACGACGAAATGCCAGCAGATCTGCCTTCCCTGGCAGCAGACTTCGTCGAGTCTAAG
 GATGTGTGTAATAATTACGCTGAAGCAAAGGATGTGTTTCTGGGCATGTTTCTGTACGAGT
 ATGCCAGGCGCCACCCTGACTACAGCGTGGTCCTGCTGCTGCGGCTGGCTAAAACCTATGA

GACTACCCTGGAAAAGTGCTGTGCTGCAGCCGATCCACATGAGTGCTATGCCAAGGTCTTC
 GACGAGTTCAAGCCACTGGTGGAGGAACCCAGAACCTGATCAAACAGAATTGTGAGCTG
 TTTGAACAGCTGGGCGAGTACAAGTTCCAGAACGCCCTGCTGGTGAGATATACAAAGAAA
 GTCCCTCAGGTGAGTACTCCAACCCTGGTGGAAGTCTCACGGAATCTGGGCAAAGTGGGG
 AGCAAGTGCTGTAAACACCCCGAGGCAAAGAGAATGCCTTGCGCCGAAGATTACCTGTCT
 GTGGTCCTGAATCAGCTGTGTGTGCTGCATGAGAAAACCTCCTGTCAGCGACCGGGTGACTA
 AGTGCTGTACCGAATCCCTGGTGAACCGACGGCCTTGCTTCTCTGCCCTGGAGGTCGATGA
 AACATATGTGCCAAAGGAGTTTAATGCAGAAACATTCACTTTTACGCCGACATCTGTACT
 CTGAGCGAGAAGGAAAGACAGATTAAGAAACAGACCGCCCTGGTCGAGCTGGTGAAGCAT
 AAACCAAAGGCTACCAAGGAACAGCTGAAAGCAGTCATGGACGATTTGCTGCATTTGTG
 GAGAAGTGCTGTAAAGCAGACGATAAGGAAACATGCTTCGCCGAGGAAGGGAAGAAACT
 GGTGGCAGCTAGCCAGGCAGCACTGGGACTGGGAGGCTCAGGAGGAAGCGGAGGGTCCG
 GAGGCTCTGGAGGAAGCTCCGAGCTGACCCAGGACCCCGCAGTGTCTGTCGCACTGGGAC
 AGACAGTGAGGATTACTTGTGAGGGGGACAGTCTGCGCTCATACTATGCTAGCTGGTACCA
 GCAGAAACCAGGCCAGGCACCCGTGCTGGTCATCTATGGCAAGAACAATCGCCCTTCCGG
 GATTCCAGATCGATTCTCTGGGTCTAGTTACAGGAAACACCGCATCTCTGACCATCACAGGC
 GCCCAGGCTGAGGACGAAGCTGATTACTATTGCAACAGCAGAGACAGCTCCGGCAATCAC
 GTGGTCTTTGGAGGAGGAAGCTAAGCTGACCGTGGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAAGTGGC
 GGGGGATCAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGCAGCGGAGAGGTCCAGCTGGTGGAAAGCGG
 AGGAGGCGTGGTCAGACCAGGAGGGTCTCTGAGACTGTCCTGTGCTGCATCAGGATTCACC
 TTTGACGATTACGGCATGTCTTGGGTCAGGCAGGCACCTGGGAAGGGCCTGGAATGGGTG
 AGTGGCATCAACTGGAATGGAGGCTCTACCGGGTACGCCGATAGTGTGAAAGGAAGGTTC
 ACAATTAGTCGCGACAACGCTAAGAACAGCCTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGCGCGCT
 GAGGACACAGCAGTGTACTATTGCGCCAGGGGGAGGTCACTGCTGTTTGATTATTGGGGGC
 AGGGAACCTCTGGTCACTGTGTACGGTGAGGATCC

38. SEQ ID NO: 128 (Secuencia de Proteínas para v593)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSG
 SRSGTDFLTIISSLQPEDFATYYCQQHYTTPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGE
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADS
 VKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSGGSG

5

DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENC
 DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPPLRPLVRPEVDVMC
 TAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRD
 EGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTQVHTECCHGD
 LLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESK
 DVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVF
 DEFKPLVEEPQNLIKQNCSELFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKC
 CKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPK
 EFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADD
 KETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGSGGSGGSGGSGGSGGSELTDPAVSVALGQTVRITCQGDSL
 RSYASWYQQKPGQAPVLYYGNRRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSR
 DSSGNHVVFVGGGTKLTVGGGSGGSGGSGGSGGSGGSGEVQLVESGGGVVVRPGGSLRLSCAA
 SGFTFDDYGMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS
 LRAEDTAVYYCARGRSLFDYWGGTLTVSR

39. SEQ ID NO: 129 (Secuencia para v594)

AGTAGCGAACTGACCCAGGACCCCGCAGTGAGCGTCGCACTGGGGCAGACAGTGCGAATC
 ACTTGCCAGGGAGACAGCCTGCGGTCCTACTATGCTTCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCC
 AGGCACCAGTGCTGGTCATCTATGGGAAGAACAATCGGCCCAGCGGCATCCCCGATAGAT
 TCTCCGGCAGCTCCTCTGGGAACACCGCCTCTCTGACAATTACTGGGGCCCAGGCTGAGGA
 CGAAGCTGATTACTATTGCAACAGCAGGGACAGTTCAGGAAATCACGTGGTCTTTGGAGG
 AGGAACTAAGCTGACCGTGGGAGGAGGCAGCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAAGTGGAG
 GAGGATCAGGAGGAGGAAGCGGAGAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGAGTGGTC
 AGACCTGGAGGGTCCCTGAGGCTGTCTTGTCGCGCTAGTGGCTTCACCTTTGACGATTACG
 GAATGAGTTGGGTCCGGCAGGCACCAGGAAAGGGACTGGAGTGGGTGTCAGGCATCAACT
 GGAATGGAGGCAGTACCGGATACGCCGATTAGTGAAAGGCAGGTTACAAATTTCTCGCG
 ACAACGCTAAGAATAGTCTGTATCTGCAGATGAACTCACTGAGAGCTGAGGATACAGCAG
 TGTACTATTGCGCCAGAGGCAGGTCTCTGCTGTTGACTACTGGGGGCAGGGAACACTGGT
 GACTGTCTCACGAGGAGGAAGCGGCGATGCACACAAGTCCGAGGTCGCTCATAGATTCAA
 AGACCTGGGGGAGGAAAATTTTAAGGCCCTGGTGCTGATCGCATTCGCCAGTATCTGCAG
 CAGTGCCCATTCGAGGACCACGTGAAACTGGTCAACGAGGTGACCGAATTTGCCAAGACA

5

TGC GTGGCCGACGAGAGCGCTGAAAATTGTGATAAATCCCTGCATACACTGTTCTGGGGGATA
 AGCTGTGTACCGTGGCCACACTGAGGGAGACTTACGGAGAAATGGCAGACTGCTGTGCCA
 AACAGGAGCCAGAACGCAACGAGTGCTTTCTGCAGCACAAGGACGATAAACCCAAATCTGC
 CACGACTGGTGGCACCAGAAGTGGACGTCATGTGTACAGCCTTCCACGATAATGAGGAAA
 CTTTTCTGAAGAAATACCTGTATGAGATCGCCCGGAGACATCCCTACTTCTATGCTCCTGAA
 CTGCTGTTCTTTGCAAAACGGTACAAGGCAGCCTTTACCGAGTGCTGTCAGGCTGCAGATA
 AGGCCGCTTGCCTGCTGCCAAAACCTGGACGAGCTGAGAGATGAAGGCAAGGCAAGCTCCG
 CCAAGCAGAGGCTGAAATGTGCTAGCCTGCAGAAAGTTCGGGGAGAGGGCCTTCAAGGCTT
 GGGCAGTGGCACGACTGTCACAGAGATTCCCCAAGGCTGAGTTTGCAGAAAGTCAGCAAGC
 TGGTGACTGACCTGACCAAAGTGCACACCGAGTGCTGTGCATGGCGACCTGCTGGAATGCGC
 CGACGATCGCGCCGATCTGGCTAAGTACATCTGTGAGAACCAGGACAGCATTCTAGTAAG
 CTGAAAGAGTGCTGTGAAAAGCCTCTGCTGGAGAAATCCCACTGCATCGCCGAGGTGGAA
 AACGACGAAATGCCAGCTGATCTGCCCTCTCTGGCAGCCGACTTCGTCGAGAGTAAGGATG
 TGTGTA AAAATTACGCTGAAGCAAAGGATGTGTTCTGGGCATGTTTCTGTACGAGTATGC
 AAGGCGACACCCAGACTACTCCGTGGTCCTGCTGCTGCGGCTGGCTAAACCTATGAGACC
 AACTGGAAAAGTGCTGTGCTGCAGCCGATCCTCATGAGTGCTATGCCAAGGTCTTCGACG
 AGTTCAAGCCACTGGTGGAGGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAAATTGTGAGCTGTTTG
 AACAGCTGGGCGAGTACAAGTTCCAGAACGCCCTGCTGGTGAGATATACAAAGAAAGTCC
 CTCAGGTGTCAACCCCAACTGGTGGAGGTGAGCCGGAATCTGGGGAAAGTGGGCAGCA
 AATGCTGTAAGCACCCCGAGGCAAAGAGAATGCCTTGCGCCGAAGATTACCTGTCTGTGGT
 CCTGAACCAGCTGTGTGTGCTGCATGAGAAAACCTCCTGTCAGTGACAGGGTGACCAAGTGC
 TGTACAGAATCTCTGGTGAACCGACGGCCTTGCTTCAGTGCCCTGGAGGTGATGAAACAT
 ATGTGCCAAAGGAGTTTAATGCCGAAACTTTACCTTTACGCTGACATCTGTACTCTGAG
 CGAGAAGGAACGCCAGATTAAGAAACAGACCGCCCTGGTCGAGCTGGTGAAGCATAAACC
 AAAGGCAACAAAGGAACAGCTGAAAGCCGTCATGGACGATTCGCTGCATTTGTGGAGAA
 ATGCTGTAAGGCCGACGATAAGGAAACTTGCTTCGCTGAGGAAGGAAAGAACTGGTGGC
 AGCTTCCCAGGCAGCACTGGGACTGGGAGGGTCTGGAGGCAGTGGAGGATCAGGAGGGAG
 CGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCAAGCCTGAGTGCCCTCAGTCGGCGATCGC
 GTGACAATTACTTGTCGAGCTTCTCAGGACGTCAATACAGCCGTGGCTTGGTATCAGCAGA
 AGCCTGGAAAGGCACCAAACTGCTGATCTACAGCGCCTCCTTTCTGTATTCCGGCGTGCC
 CTCTCGATTCTCTGGAAGTCGGTCAGGCACCGATTTTACCCTGACAATTCCTCTCTGCAGC

CTGAGGACTTCGCCACATACTATTGCCAGCAGCACTATACTACCCCCCTACTTTTGGCCA
GGGGACCAAGGTGGAAATCAAAGGGGGAAGTGGCGGGGGATCAGGCGGCGGAAGCGGCG
GCGGCAGCGGCGGCGGATCTGGAGAGGTCCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTG**GTG**
CAGCCTGGAGGGAGTCTGCGACTGTCATGTGCTGCAAGCGGCTTCAACATCAAAGATACCT
ACATTCATTGGGTCAGGCAGGCCCTGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGGCACGAATCTATC
CCACTAATGGCTACACCAGATATGCCGATTCCGTGAAAGGGCGCTTCACTATTTCCGCTGA
CACATCTAAGAACACTGCATACCTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCTGAGGACACCGCAGT
GTACTATTGCTCTCGATGGGGCGGCGACGGCTTCTACGCAATGGACTACTGGGGGCAGGGG
ACACTGGTGACTGTGAGCAGCTGAGGATCC

40. SEQ ID NO: 130 (Secuencia de Proteínas para v594)

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGS
SSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHVVFVGGGTKLTVGGGSGGGSGGGSGGGSGGG
SGEVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTG
YADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRSLFDYWGQGLTVTVSRGGSG
DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENC
DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPEPERNECFQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMC
TAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDEL RD
EGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGD
LLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESK
DVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVF
DEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKC
CKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPK
EFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKCADD
KETCFAEEGKKLVAAASQAALGLGGSGGSGGSGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ
DVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQH
YTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF
NIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAE
DTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSS

5

41. SEQ ID NO: 19 (Secuencia de señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCP
FEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPE
RNECFQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKR
YKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVCRLSQR
FPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGD LLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEK
SHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARA

10

42. SEQ ID NO: 55 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 19)

CL_#1042_HSA-1_337_DSS_CH-A_A217C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGCTGCTGCTGTCCGGAGCT
 CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGAGATGCACACAAGAGTGAGGTTGCTCATCGGTTTA
 AAGATTTGGGAGAAGAAAATTTCAAAGCCTTGGTGTTGATTGCCTTTGCTCAGTATCTTCA
 GCAGTGTCCATTTGAAGATCATGTAAAATTAGTGAATGAAGTAACTGAATTTGCAAAAACA
 TGTGTTGCTGATGAGTCAGCTGAAAATTGTGACAAATCACTTCATACCCTTTTTGGAGACA
 AATTATGCACAGTTGCAACTCTTCGTGAAACCTATGGTGAAATGGCTGACTGCTGTGCAAA
 ACAAGAACCTGAGAGAAATGAATGCTTCTTGCAACACAAAGATGACAACCCAAACCTCCC
 CCGATTGGTGAGACCAGAGGTTGATGTGATGTGCACTGCTTTTCATGACAATGAAGAGACA
 TTTTGA AAAAATACTTATATGAAATTGCCAGAAGACATCCTTACTTTTATGCCCCGGAAC
 CCTTTTCTTTGCTAAAAGGTATAAAGCTGCTTTTACAGAATGTTGCCAAGCTGCTGATAAAG
 CTGCCTGCCTGTTGCCAAAGCTCGATGAACTTCGGGATGAAGGGAAGGCTTCGTCTGCCAA
 ACAGAGACTCAAGTGTGCCAGTCTCCAAAAATTTGGAGAAAGAGCTTTCAAAGCATGGGC
 AGTATGCCGCTGAGCCAGAGATTTCCCAAAGCTGAGTTTGCAGAAGTTTCAAAGTTAGTG
 ACAGATCTTACCAAAGTCCACACGGAATGCTGCCATGGAGATCTGCTTGAATGTGCTGATG
 ACAGGGCGGACCTTGCCAAGTATATCTGTGAAAATCAAGATTCGATCTCCAGTAAACTGAA
 GGAATGCTGTGAAAAACCTCTGTTGGAAAAATCCCACTGCATTGCCGAAGTGGAAAAATGA
 TGAGATGCCTGCTGACTTGCTTCATTAGCTGCTGATTTTGTGAAAGTAAGGATGTTTGCA
 AAAACTATGCTGAGGCAAAGGATGTCTTCCTGGGCATGTTTTTGTATGAATATGCAAGAGC
 ATGA

43. SEQ ID NO: 20 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVL LLSGALALTQTWAGSCVLLLR LAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE
 FKPLVEEPQNLKQNCLEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCK
 HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEF
 NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDK
 ETCFAEEGKKLVAASQAALGL

44. SEQ ID NO: 56: (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 20)

CL_#1045_HSA-342_585_DSS_CH-B_V343C

CGCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGCTGCTGCTGTCCGGAGCT
 CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGATCTTGCGTGCTGCTGCTGAGACTTGCCAAAGACAT
 ATGAAACCCTCTAGAGAAGTGCTGTGCCGCTGCAGATCCTCATGAATGCTATGCCAAAGT
 GTTCGATGAATTTAAACCTCTTGTTGGAAGAGCCTCAGAATTTAATCAAACAAAATTGTGAG
 CTTTTGAGCAGCTTGGAGAGTACAAATTCCAGAATGCGCTATTAGTTTCGTTACACCAAGA
 AAGTACCCCAAGTGTCAACTCCAACCTCTGTAGAGGTCTCAAGAAACCTAGGAAAAGTGG
 GCAGCAAAATGTTGTAAACATCCTGAAGCAAAAAGAAATGCCCTGTGCAGAAGACTATCTAT
 CCGTGGTCTGAACAGTTATGTGTGTTGCATGAGAAAACGCCAGTAAGTGACAGAGTCAC
 CAAATGCTGCACAGAATCCTTGGTGAACAGGCGACCATGCTTTTCAGCTCTGGAAGTCGAT
 GAAACATACGTTCCCAAAGAGTTTAATGCTGAAACATTCACCTTCCATGCAGATATATGCA
 CACTTTCTGAGAAGGAGAGACAAATCAAGAAACAAACTGCACTTGTTGAGCTCGTGAAAC
 ACAAGCCCAAGGCAACAAAAGAGCAACTGAAAGCTGTTATGGATGATTTTCGAGCTTTTGT
 AGAGAAGTGCTGCAAGGCTGACGATAAGGAGACCTGCTTTGCCGAGGAGGGTAAAAAACT
 TGTGCTGCAAGTCAAGCTGCCTTAGGCTTATGA

45. SEQ ID NO: 21 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVL LLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCP
 FEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPE
 RNECF LQH KDDNPNL PRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKR
 YKAAFECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQ
 RFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLE
 KSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFCY EYARA

46. SEQ ID NO: 57: (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 21)

CL_#1043_HSA-1_337_DSS_CH-A_L331C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGCTGCTGCTGTCCGGAGCT
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGAGATGCACACAAGAGTGAGGTTGCTCATCGGTTTA
AAGATTTGGGAGAAGAAAATTTCAAAGCCTTGGTGTTGATTGCCTTTGCTCAGTATCTTCA
GCAGTGTCCATTTGAAGATCATGTAAAATTAGTGAATGAAGTAACTGAATTTGCAAAAACA
TGTGTTGCTGATGAGTCAGCTGAAAATTGTGACAAATCACTTCATACCCTTTTTGGAGACA
AATTATGCACAGTTGCAACTCTTCGTGAAACCTATGGTGAAATGGCTGACTGCTGTGCAAA
ACAAGAACCTGAGAGAAATGAATGCTTCTTGCAACACAAAGATGACAACCCAAACCTCCC
CCGATTGGTGAGACCAGAGGTTGATGTGATGTGCACTGCTTTTCATGACAATGAAGAGACA
TTTTTGAAAAAATACTTATATGAAATTGCCAGAAGACATCCTTACTTTTATGCCCCGGA
CCTTTTCTTTGCTAAAAGGTATAAAGCTGCTTTTACAGAATGTTGCCAAGCTGCTGATAAAG
CTGCCTGCCTGTTGCCAAGCTCGATGAACCTCGGGATGAAGGGAAGGCTTCGTCTGCCAA
ACAGAGACTCAAGTGTGCCAGTCTCCAAAAATTTGGAGAAAGAGCTTTCAAAGCATGGGC
AGTAGCTCGCCTGAGCCAGAGATTTCCCAAAGCTGAGTTTGCAGAAGTTTCCAAGTTAGTG

5

ACAGATCTTACCAAAGTCCACACGGAATGCTGCCATGGAGATCTGCTTGAATGTGCTGATG
ACAGGGCGGACCTTGCCAAGTATATCTGTGAAAATCAAGATTCGATCTCCAGTAAACTGAA
GGAATGCTGTGAAAAACCTCTGTTGGAAAAATCCCACTGCATTGCCGAAGTGGAAAAATGA
TGAGATGCCTGCTGACTTGCCTTCATTAGCTGCTGATTTTGTGAAAGTAAGGATGTTTGCA
AAAATATGCTGAGGCAAAGGATGTCTTCCTGGGCATGTTTGTCTATGAATATGCAAGAGC
ATGA

10 47. SEQ ID NO: 22 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGSVVLLLRCLKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE
FKPLVEEPQNLIKQNCLEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCK
HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEF
NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDK
ETCFAEEGKKLVAASQAALGL

48. SEQ ID NO: 58 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 22)

15

CL_#1047_HSA-342_585_DSS_CH-B_A350C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGCTGCTGCTGTCCGGAGCT
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGATCTGTCGTGCTGCTGCTGAGACTTTGCAAGACAT
ATGAAACCACTCTAGAGAAGTGCTGTGCCGCTGCAGATCCTCATGAATGCTATGCCAAAGT
GTTTCGATGAATTTAAACCTCTTGTTGGAAGAGCCTCAGAATTTAATCAAACAAAATTGTGAG
CTTTTGAGCAGCTTGGAGAGTACAAATTCCAGAATGCGCTATTAGTTCGTTACACCAAGA
AAGTACCCCAAGTGTCAACTCCAACCTTTGTAGAGGTCTCAAGAAACCTAGGAAAAGTGG
GCAGCAAATGTTGTAAACATCCTGAAGCAAAAAGAATGCCCTGTGCAGAAGACTATCTAT
CCGTGGTCCTGAACCAAGTTATGTGTGTTGCATGAGAAAACGCCAGTAAGTGACAGAGTCAC
CAAATGCTGCACAGAATCCTTGGTGAACAGGCGACCATGCTTTTCAGCTCTGGAAGTCGAT
GAAACATACGTTCCCAAAGAGTTTAATGCTGAAACATTCACCTTCCATGCAGATATATGCA
CACTTTCTGAGAAGGAGAGACAAATCAAGAAACAACTGCCTTGTGAGCTCGTGAAAC
ACAAGCCCAAGGCAACAAAAGAGCAACTGAAAGCTGTTATGGATGATTTTCGAGCTTTTGT
AGAGAAGTGCTGCAAGGCTGACGATAAGGAGACCTGCTTTGCCGAGGAGGGTAAAAAACT
TGTTGCTGCAAGTCAAGCTGCCTTAGGCTTATGA

20 49. SEQ ID NO: 23 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCP
FEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPE
RNECFLQHKDDNPRLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKR
YKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVCRLSQR
FPKAEFAEVSCLVTDLTQVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEK
SHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARA

50. SEQ ID NO: 59 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 23)

5 CL_#1042_HSA-1_337_DSS_CH-A_A217C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGTGCTGCTGTCCGGAGCT
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGAGATGCACACAAGAGTGAGGTTGCTCATCGGTTTA
AAGATTTGGGAGAAGAAAATTTCAAAGCCTTGGTGTGATTGCCTTTGCTCAGTATCTTCA
GCAGTGTCATTTGAAGATCATGTAAAATTAGTGAATGAAGTAACTGAATTTGCAAAAACA
TGTGTTGCTGATGAGTCAGCTGAAAATTGTGACAAATCACTTCATACCCTTTTTGGAGACA
AATTATGCACAGTTGCAACTCTTCGTGAAACCTATGGTGAATGGCTGACTGCTGTGCAAA
ACAAGAACCCTGAGAGAAATGAATGCTTCTTGCAACACAAAGATGACAAACCAACCTCCC
CCGATTGGTGAGACCAGAGGTTGATGTGATGTGCACTGCTTTTCATGACAATGAAGAGACA
TTTTTGAAAAAATACTTATATGAAATTGCCAGAAGACATCCTTACTTTTATGCCCCGGA
CCTTTTCTTTGCTAAAAGGTATAAAGCTGCTTTTACAGAATGTTGCCAAGCTGCTGATAAAG
CTGCCTGCCTGTTGCCAAGCTCGATGAACTTCGGGATGAAGGGAAGGCTTCGTCTGCCAA
ACAGAGACTCAAGTGTGCCAGTCTCCAAAAATTTGGAGAAAGAGCTTTCAAAGCATGGGC
AGTATGCCGCCTGAGCCAGAGATTTCCCAAAGCTGAGTTTGCAGAAGTTTCCAAGTTAGTG
ACAGATCTTACCAAAGTCCACACGGAATGCTGCCATGGAGATCTGCTTGAATGTGCTGATG
ACAGGGCGGACCTTGCCAAGTATATCTGTGAAAATCAAGATTCGATCTCCAGTAAACTGAA
GGAATGCTGTGAAAAACCTCTGTTGGAAAAATCCCACTGCATTGCCGAAGTGGAAGATGA
TGAGATGCCTGCTGACTTGCTTCATTAGCTGCTGATTTTGTGAAAGTAAGGATGTTTGCA
AAAACATGCTGAGGCAAAGGATGTCTTCTGGGCATGTTTTGTATGAATATGCAAGAGC
ATGA

51. SEQ ID NO: 24 (Secuencia de Señal subrayada)

10

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGSVVLCLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVFDE
FKPLVEEPQNLIKQNCLEFQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCK
HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEF
NAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDK
ETCFAEEGKKLVAASQAALGL*

52. SEQ ID NO: 60 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 24)

15 CL_#1046_HSA-342_585_DSS_CH-B_L346C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGTGCTGCTGTCCGGAGCT
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGATCTGTCGTGCTGTGCCTGAGACTTGCCAAGACAT
ATGAAACCACTCTAGAGAAGTGCTGTGCCGCTGCAGATCCTCATGAATGCTATGCCAAAGT
GTTTCGATGAATTTAAACCTCTTGTGGAAGAGCCTCAGAATTTAATCAAACAAAATTTGTGAG
CTTTTGTAGCAGCTTGAGAGGTACAAATTCAGAATGCGCTATTAGTTCGTTACACCAAGA
AAGTACCCCAAGTGTCAACTCCAACCTCTGTAGAGGTCTCAAGAAACCTAGGAAAAGTGG
GCAGCAAATGTTGTAAACATCCTGAAGCAAAAAGAATGCCCTGTGCAGAAGACTATCTAT
CCGTGGTCTGAACCAAGTTATGTGTGTTGCATGAGAAAACGCCAGTAAGTGACAGAGTCAC
CAAATGCTGCACAGAATCCTTGGTGAACAGGCGACCATGCTTTTCAGCTCTGGAAGTCGAT
GAAACATACGTTCCCAAAGAGTTTAAATGCTGAAACATTCACCTTCCATGCAGATATATGCA
CACTTTCTGAGAAGGAGAGACAAATCAAGAAACAACTGCACTTGTGAGCTCGTGAAAC
ACAAGCCCAAGGCAACAAAAGAGCAACTGAAAGCTGTTATGGATGATTTTCGAGCTTTTGT
AGAGAAGTGCTGCAAGGCTGACGATAAGGAGACCTGCTTTGCCGAGGAGGGTAAAAAAC

TTGTTGCTGCAAGTCAAGCTGCCTTAGGCTTATGA

5 53. SEQ ID NO: 25 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCP
FEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPE
RNECFLQHKKDDPNLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKR
YKAAFTTECCQAADKAAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKACAVARLSQR
FPKAEFAEVSCLVTDLTQVHTECCHGDLLECADRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEK
SHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARA

54. SEQ ID NO: 61 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 25)

10

CL_#1041_HSA-1_337_DSS_CH-A_W214C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGTCTGCTGCTGTCCGGAGCT
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGAGATGCACACAAGAGTGAGGTTGCTCATCGGTTTA
AAGATTTGGGAGAAGAAAATTTCAAAGCCTTGGTGTGATTGCCTTTGCTCAGTATCTTCA
GCAGTGTCCATTTGAAGATCATGTAAATAGTGAATGAAGTAACTGAATTTGCAAAAACA
TGTGTTGCTGATGAGTCAGCTGAAAATTGTGACAAATCACTTCATACCCTTTTTGGAGACA
AATTATGCACAGTTGCAACTCTTCGTGAAACCTATGGTGAAATGGCTGACTGCTGTGCAAA
ACAAGAACCTGAGAGAAATGAATGCTTCTTGCAACACAAAGATGACAACCCAAACCTCCC
CCGATTGGTGAGACCAGAGGTTGATGTGATGTGCACTGCTTTTCATGACAATGAAGAGACA
TTTTTGAAAAAATACTTATATGAAATTGCCAGAAGACATCCTTACTTTTATGCCCCGGAAC
CCTTTTCTTTGCTAAAAGGTATAAAGCTGCTTTTACAGAATGTTGCCAAGCTGCTGATAAAG
CTGCCTGCCTGTTGCCAAAGCTCGATGAACTTCGGGATGAAGGGAAGGCTTCGTCTGCCAA
ACAGAGACTCAAGTGTGCCAGTCTCCAAAAATTTGGAGAAAGAGCTTTCAAAGCATGCGC
AGTAGCTCGCCTGAGCCAGAGATTTCCCAAAGCTGAGTTTGCAGAAGTTTCAAAGTTAGTG
ACAGATCTTACCAAAGTCCACACGGAATGCTGCCATGGAGATCTGCTTGAATGTGCTGATG
ACAGGGCGGACCTTGCCAAGTATATCTGTGAAAATCAAGATTCGATCTCCAGTAAACTGAA
GGAATGCTGTGAAAAACCTCTGTTGGAAAAATCCCACTGCATTGCCGAAGTGGAAAAATGA
TGAGATGCCTGCTGACTTGCTTCATTAGCTGCTGATTTTGTGAAAGTAAGGATGTTTGCA
AAAACATATGCTGAGGCAAAGGATGTCTTCCTGGGCATGTTTTTGTATGAATATGCAAGAGC
ATGA

15 55. SEQ ID NO: 26 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGSCVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE
FKPLVEEPQNLIKQNCLEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCK
HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEF
NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDK
ETCFAEEGKKLVAASQAALGL

56. SEQ ID NO 62: (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 26)

20

CL_#1045_HSA-342_585_DSS_CH-B_V343C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGCTGCTGCTGTCCGGAGCT
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGATCTTGCGTGCTGCTGCTGAGACTTGCCAAAGACAT
ATGAAACCACTCTAGAGAAGTGCTGTGCCGCTGCAGATCCTCATGAATGCTATGCCAAAGT
GTTTCGATGAATTTAAACCTCTTGTGGAAGAGCCTCAGAATTTAATCAAACAAAATTGTGAG
CTTTTGTGAGCAGCTTGGAGAGTACAAATTCAGAATGCGCTATTAGTTCGTTACACCAAGA
AAGTACCCCAAGTGTCAACTCCAACCTCTGTAGAGGTCTCAAGAAACCTAGGAAAAGTGG
GCAGCAAATGTTGTAAACATCCTGAAGCAAAAAGAATGCCCTGTGCAGAAGACTATCTAT
CCGTGGTCCTGAACCAGTTATGTGTGTTGCATGAGAAAACGCCAGTAAGTGACAGAGTCAC
CAAATGCTGCACAGAATCCTTGGTGAACAGGCGACCATGCTTTTCAGCTCTGGAAGTCGAT
GAAACATACGTTCCCAAAGAGTTTAATGCTGAAACATTACCTTCCATGCAGATATATGCA
CACTTTCTGAGAAGGAGAGACAAATCAAGAAACAACTGCACTTGTGAGCTCGTGAAAC
ACAAGCCCAAGGCAACAAAAGAGCAACTGAAAGCTGTTATGGATGATTTTCGAGCTTTTGT
AGAGAAGTGCTGCAAGGCTGACGATAAGGAGACCTGCTTTGCCGAGGAGGGTAAAAAAC
TTGTTGCTGCAAGTCAAGCTGCCTTAGGCTTATGA

57. SEQ ID NO: 27 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCP
FEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPE
RNECFQLQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKR
YKAAFECCQAADKAACLLPKLDELREDEKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQ
RFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLE
KSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYCRA

58. SEQ ID NO: 63 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 27)

CL_#1044_HSA-1_337_DSS_CH-A_A335C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGCTGCTGCTGTCCGGAGCT
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGAGATGCACACAAGAGTGAGGTTGCTCATCGGTTTA
AAGATTTGGGAGAAGAAAATTTCAAAGCCTTGGTGTGATTGCCTTTGCTCAGTATCTTCA
GCAGTGTCATTGTAAGATCATGTAAATTAGTGAATGAAGTAACTGAATTTGCAAAAACA
TGTGTTGCTGATGAGTCAGCTGAAAATTGTGACAAATCACTTCATACCCTTTTGGAGACA
AATTATGCACAGTTGCAACTCTTCGTGAAACCTATGGTGAAATGGCTGACTGCTGTGCAAA
ACAAGAACCTGAGAGAAATGAATGCTTCTTGCAACACAAAGATGACAACCCAAACCTCCC

CCGATTGGTGAGACCAGAGGTTGATGTGATGTGCACTGCTTTTCATGACAATGAAGAGACA
TTTTTGAAAAAATACTTATATGAAATTGCCAGAAGACATCCTTACTTTTATGCCCCGGAAC
CCTTTTCTTTGCTAAAAGGTATAAAGCTGCTTTTACAGAATGTTGCCAAGCTGCTGATAAAG
CTGCCTGCCTGTTGCCAAAGCTCGATGAACTTCGGGATGAAGGGAAGGCTTCGTCTGCCAA
ACAGAGACTCAAGTGTGCCAGTCTCCAAAATTTGGAGAAAGAGCTTTCAAAGCATGGGC
AGTAGCTCGCCTGAGCCAGAGATTTCCCAAAGCTGAGTTTGCAGAAGTTTCCAAGTTAGTG
ACAGATCTTACCAAAGTCCACACGGAATGCTGCCATGGAGATCTGCTTGAATGTGCTGATG
ACAGGGCGGACCTTGCCAAGTATATCTGTGAAAATCAAGATTCGATCTCCAGTAAACTGAA
GGAATGCTGTGAAAAACCTCTGTTGGAAAAATCCCACTGCATTGCCGAAGTGGAAGTGA
TGAGATGCCTGCTGACTTGCCTTCATTAGCTGCTGATTTTGTGAAAGTAAGGATGTTTGCA
AAAATATGCTGAGGCAAAGGATGTCTTCTGGGCATGTTTTTGTATGAATATTGCAGAGC
ATGA

59. SEQ ID NO: 28 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGSVVLCRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE
FKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCK
HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEF
NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTLVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDK
ETCFAEEGKKLVAASQAALGL

60. SEQ ID NO: 64 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 28)

5 CL_#1046_HSA-342_585_DSS_CH-B_L346C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGTGCTGCTGTCCGGAGCT
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGATCTGTCGTGCTGTGCCTGAGACTTGCCAAGACAT
ATGAAACCACTCTAGAGAAGTGCTGTGCCGCTGCAGATCCTCATGAATGCTATGCCAAAGT
GTTTCGATGAATTTAAACCTCTTGTGGAAGAGCCTCAGAATTTAATCAAACAAAATTGTGAG
CTTTTGAGCAGCTTGGAGAGTACAAATTCCAGAATGCGCTATTAGTTCGTTACACCAAGA
AAGTACCCCAAGTGTCAACTCCAACCTTTGTAGAGGTCTCAAGAAACCTAGGAAAAGTGG
GCAGCAAATGTTGTAAACATCCTGAAGCAAAAAGAATGCCCTGTGCAGAAGACTATCTAT
CCGTGGTCTGAACCAAGTTATGTGTGTTGCATGAGAAAACGCCAGTAAGTGACAGAGTCAC
CAAATGCTGCACAGAATCCTTGGTGAACAGGCGACCATGCTTTTCAGCTCTGGAAGTCGAT
GAAACATACGTTCCCAAAGAGTTTAATGCTGAAACATTACCTTCCATGCAGATATATGCA
CACTTTCTGAGAAGGAGAGACAAATCAAGAAACAACTGCAGCTGTTGAGCTCGTGAAAC
ACAAGCCCAAGGCAACAAAAGAGCAACTGAAAGCTGTTATGGATGATTTTCGAGCTTTTGT
AGAGAAGTGCTGCAAGGCTGACGATAAGGAGACCTGCTTTGCCGAGGAGGGTAAAAAACT
TGTTGCTGCAAGTCAAGCTGCCTTAGGCTTATGA

61. SEQ ID NO: 29 (Secuencia de Señal subrayada)

10

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCP
FEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPE
RNECFLOHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKR
YKAAFTCCQAADKAACLLPKLDELRLDEGKASSAQRCQKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQ
RFPKAEFAEVSKLVTDLTQVHTECHGDLLECAADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLE
KSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFGLMFLYEYARA

62. SEQ ID NO: 65 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 29)

15 CL_#1040_HSA-1_337_DSS_CH-A_L198C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGTGCTGCTGTCCGGAGCT
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGAGATGCACACAAGAGTGAGGTTGCTCATCGGTTTA
AAGATTTGGGAGAAGAAAATTTCAAAGCCTTGGTGTGATTGCCTTTGCTCAGTATCTTCA
GCAGTGTCCATTTGAAGATCATGTAAAATTAGTGAATGAAGTAACTGAATTTGCAAAAACA
TGTGTTGCTGATGAGTCAGCTGAAAATTGTGACAAATCACTTCATACCCTTTTTGGAGACA
AATTATGCACAGTTGCAACTCTTCGTGAAACCTATGGTGAAATGGCTGACTGCTGTGCAA
ACAAGAACCTGAGAGAAATGAATGCTTCTTGCAACACAAAGATGACAACCCAAACCTCCC
CCGATTGGTGAGACCAGAGGTTGATGTGATGTGCACTGCTTTTCATGACAATGAAGAGACA
TTTTTGAAAAAATACTTATATGAAATTGCCAGAAGACATCCTTACTTTTATGCCCCGGA
CCTTTTCTTTGCTAAAAGGTATAAAGCTGCTTTTACAGAATGTTGCCAAGCTGCTGATAAAG
CTGCCTGCCTGTTGCCAAAGCTCGATGAACCTCGGGATGAAGGGAAGGCTTCGTCTGCCAA
ACAGAGATGCAAGTGTGCCAGTCTCCAAAAATTTGGAGAAAGAGCTTTCAAAGCATGGGC
AGTAGCTCGCCTGAGCCAGAGATTTCCCAAAGCTGAGTTTGCAGAAGTTTCCAAGTTAGTG
ACAGATCTTACCAAAGTCCACACGGAATGCTGCCATGGAGATCTGCTTGAATGTGCTGATG
ACAGGGCGGACCTTGCCAAGTATATCTGTGAAAATCAAGATTCGATCTCCAGTAAACTGAA
GGAATGCTGTGAAAAACCTCTGTTGGAAAAATCCCACTGCATTGCCGAAGTGGAAATGA
TGAGATGCCTGCTGACTTGCCTTCATTAGCTGCTGATTTTGTGAAAGTAAGGATGTTTGCA
AAAACCTATGCTGAGGCAAAGGATGTCTTCCTGGGCATGTTTTTGTATGAATATGCAAGAGC
ATGA

63. SEQ ID NO: 30 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGSVVLLLRLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVFDE
FKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCK
HPEAKRMPCAEDYLSVNLQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEF
NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDK
ETCFAEEGKKLVAASQAALGL

5

64. SEQ ID NO: 66 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 30)

CL_#1048_HSA-342_585_DSS_CH-B_V455C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGCTGCTGCTGTCCGGAGCT
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGATCTGTCTGCTGCTGCTGAGACTTGCCAAGACAT

10

ATGAAACCACTCTAGAGAAGTGCTGTGCCGCTGCAGATCCTCATGAATGCTATGCCAAAGT
GTTTCGATGAATTTAAACCTCTTGTTGGAAGAGCCTCAGAATTTAATCAAACAAAATTGTGAG
CTTTTGTAGCAGCTTGGAGAGTACAAATTCAGAATGCGCTATTAGTTCGTTACACCAAGA
AAGTACCCCAAGTGTCAACTCCAACCTCTGTAGAGGTCTCAAGAAACCTAGGAAAAGTGG
GCAGCAAATGTTGTAAACATCCTGAAGCAAAAAGAATGCCCTGTGCAGAAGACTATCTAT
CCTGCGTCTGAACCAAGTTATGTGTGTTGCATGAGAAAACGCCAGTAAGTGACAGAGTCAC
CAAATGCTGCACAGAATCCTTGGTGAACAGGCGACCATGCTTTTCAGCTCTGGAAGTCGAT
GAAACATACGTTCCCAAAGAGTTTAATGCTGAAACATTACCTTCCATGCAGATATATGCA
CACTTTCTGAGAAGGAGAGACAAATCAAGAAACAACTGCACTTGTTGAGCTCGTGAAAC
ACAAGCCCAAGGCAACAAAAGAGCAACTGAAAGCTGTTATGGATGATTTTCGCAGCTTTTGT
AGAGAAGTGCTGCAAGGCTGACGATAAGGAGACCTGCTTTGCCGAGGAGGGTAAAAAACT
TGTTGCTGCAAGTCAAGCTGCCTTAGGCTTATGA

15

65. SEQ ID NO: 31 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCP
FEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPE
RNECFLQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELFFAKR
YKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVCRLSQR
FPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEK
SHCIAEV

20 66. SEQ ID NO: 67 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 31)

CL_#1051_HSA-1_293_CH-A_A217C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGCTGCTGCTGTCCGGAGCT
 CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGAGATGCACACAAGAGTGAGGTTGCTCATCGGTTTA
 AAGATTTGGGAGAAGAAAATTTCAAAGCCTTGGTGTTGATTGCCTTTGCTCAGTATCTTCA
 GCAGTGTCCATTTGAAGATCATGTAAAATTAGTGAATGAAGTAACTGAATTTGCAAAAACA
 TGTGTTGCTGATGAGTCAGCTGAAAATTGTGACAAATCACTTCATACCCTTTTTGGAGACA
 AATTATGCACAGTTGCAACTCTTCGTGAAACCTATGGTGAAATGGCTGACTGCTGTGCAAA
 ACAAGAACCTGAGAGAAATGAATGCTTCTTGCAACACAAAGATGACAACCCAAACCTCCC
 CCGATTGGTGAGACCAGAGGTTGATGTGATGTGCACTGCTTTTCATGACAATGAAGAGACA
 TTTTGTAAAAAATACTTATATGAAATTGCCAGAAGACATCCTTACTTTTATGCCCCGGAAC
 CCTTTTCTTTGCTAAAAGGTATAAAGCTGCTTTTACAGAATGTTGCCAAGCTGCTGATAAAG
 CTGCCTGCCTGTTGCCAAGCTCGATGAACTTCGGGATGAAGGGAAGGCTTCGTCTGCCAA
 ACAGAGACTCAAGTGTGCCAGTCTCCAAAAATTTGGAGAAAGAGCTTTCAAAGCATGGGC
 AGTATGCCGCTGAGCCAGAGATTTCCCAAAGCTGAGTTTGCAGAAGTTTCCAAGTTAGTG
 ACAGATCTTACCAAAGTCCACACGGAATGCTGCCATGGAGATCTGCTTGAATGTGCTGATG
 ACAGGGCGGACCTTGCCAAGTATATCTGTGAAAATCAAGATTCGATCTCCAGTAAACTGAA
 GGAATGCTGTGAAAAACCTCTGTTGGAAAAATCCCACTGCATTGCCGAAGTGTGA

67. SEQ ID NO: 32 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVLGLMFLYEYCR
 HPDYSVVLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVFEDEFKPLVEEPQNLKQNCLEFEQLGE
 YKFQNALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCV
 LHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQT
 ALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFEEGKKLVAAASQAALGL

68. SEQ ID NO: 68 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 32)

CL_#1053_HSA-304_585_CH-B_A335C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGCTGCTGCTGTCCGGAGCT
 CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGATCATTAGCTGCTGATTTTGTGAAAGTAAGGATG
 TTTGCAAAAATATGCTGAGGCAAAGGATGTCTTCCTGGGCATGTTTTGTATGAATATGC
 AGAAGGCATCCTGATTACTCTGTCTGCTGCTGCTGAGACTTGCCAAGACATATGAAACCA
 CTCTAGAGAAGTGCTGTGCCGCTGCAGATCCTCATGAATGCTATGCCAAAGTGTTTCGATGA
 ATTTAAACCTCTTGTGGAAGAGCCTCAGAATTTAATCAAACAAAATTGTGAGCTTTTTGAG
 CAGCTTGGAGAGTACAAATTCAGAATGCGCTATTAGTTCGTTACACCAAGAAAGTACCCC
 AAGTGTCAACTCCAACCTCTTGTAGAGGTCTCAAGAAACCTAGGAAAAGTGGGCAGCAAAT
 GTTGTAACATCCTGAAGCAAAAAGAATGCCCTGTGCAGAAGACTATCTATCCGTGGTCCT
 GAACCAGTTATGTGTGTTGCATGAGAAAACGCCAGTAAGTGACAGAGTCACCAAAATGCTG
 CACAGAATCCTTGGTGAAACAGGCGACCATGCTTTTCAGCTCTGGAAGTCGATGAAACATAC
 GTTCCCAAAGAGTTTAATGCTGAAACATTACCTTCCATGCAGATATATGCACACTTTCTGA
 GAAGGAGAGACAAATCAAGAAACAACTGCACTTGTTGAGCTCGTGAAACACAAGCCCAA
 GGCAACAAAAGAGCAACTGAAAGCTGTTATGGATGATTTTCGAGCTTTTGTAGAGAAGTG
 CTGCAAGGCTGACGATAAGGAGACCTGCTTGGCGAGGAGGTA AAAA ACTTGTTGCTGC
 AAGTCAAGCTGCCTTAGGCTTATGA

69. SEQ ID NO: 33 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCP
 FEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPE
 RNECFQLQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKR
 YKAAFECCQAADKAACLLPKLDELRLDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVCRLSQR
 FPKAEFAEVSKLVTDLTQVHTECHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEK
 SHCIAEV

70. SEQ ID NO: 69 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 33)

CL_#1051_HSA-1_293_CH-A_A217C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGTGCTGCTGTCCGGAGCT
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGAGATGCACACAAGAGTGAGGTTGCTCATCGGTTTA
AAGATTTGGGAGAAGAAAATTTCAAAGCCTTGGTGTGATTGCCTTTGCTCAGTATCTTCA
GCAGTGTCCATTTGAAGATCATGTAAAATTAGTGAATGAAGTAACTGAATTTGCAAAAAACA
TGTGTTGCTGATGAGTCAGCTGAAAATTGTGACAAATCACTTCATACCCTTTTGGAGACA

5

AATTATGCACAGTTGCAACTCTTCGTGAAACCTATGGTGAAATGGCTGACTGCTGTGCAAA
ACAAGAACCTGAGAGAAATGAATGCTTCTTGCAACACAAAGATGACAACCCAAACCTCCC
CCGATTGGTGAGACCAGAGGTTGATGTGATGTGCACTGCTTTTCATGACAATGAAGAGACA
TTTTTGAAAAATACTTATATGAAATTGCCAGAAGACATCCTTACTTTTATGCCCCGGAAC
CCTTTTCTTTGCTAAAAGGTATAAAGCTGCTTTTACAGAATGTTGCCAAGCTGCTGATAAAG
CTGCCTGCCTGTTGCCAAGCTCGATGAACTTCGGGATGAAGGGAAGGCTTCGTCTGCCAA
ACAGAGACTCAAGTGTGCCAGTCTCCAAAAATTTGGAGAAAGAGCTTTCAAAGCATGGGC
AGTATGCCGCTGAGCCAGAGATTTCCCAAAGCTGAGTTTGCAGAAGTTTCCAAGTTAGTG
ACAGATCTTACCAAAGTCCACACGGAATGCTGCCATGGAGATCTGCTTGAATGTGCTGATG
ACAGGGCGGACCTTGCCAAGTATATCTGTGAAAATCAAGATTCGATCTCCAGTAACTGAA
GGAATGCTGTGAAAAACCTCTGTTGAAAAATCCCACTGCATTGCCGAAGTGTGA

71. SEQ ID NO: 34 (Secuencia de Señal subrayada)

10

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFCY EYARR
HPDYSVVLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC ELFQ LGE
YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCV
LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQT
ALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETFAEEGKKLVAAASQAALGL

72. SEQ ID NO: 70 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 34)

15 CL_#1052_HSA-304_585_CH-B_L331C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGTGCTGCTGTCCGGAGCT
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGATCATTAGCTGCTGATTTTGTGAAAGTAAGGATG
TTTGCAAAAATATGCTGAGGCAAAGGATGTCTTCCTGGGCATGTTTGTCTATGAATATGC
AAGAAGGCATCCTGATTACTCTGTCGTGCTGCTGCTGAGACTTGCCAAGACATATGAAACC
ACTCTAGAGAAGTGCTGTGCCGCTGCAGATCCTCATGAATGCTATGCCAAGTGTTTCGATG
AATTTAAACCTCTTGTGGAAGAGCCTCAGAATTTAATCAAACAAAATTGTGAGCTTTTGA
GCAGCTTGAGAGGTACAAATTCCAGAATGCGCTATTAGTTCGTTACACCAAGAAAGTACCC
CAAGTGTCAACTCCAACCTCTTGTAGAGGTCTCAAGAAACCTAGGAAAAGTGGGCAGCAA
TGTTGTAAACATCCTGAAGCAAAAAGAATGCCCTGTGCAGAAGACTATCTATCCGTGGTCC
TGAACCAGTTATGTGTGTTGCATGAGAAAACGCCAGTAAGTGACAGAGTCACCAAATGCT
GCACAGAATCCTTGGTGAACAGGCGACCATGCTTTTCAGCTCTGGAAGTCGATGAAACATA
CGTTCCCAAAGAGTTTAATGCTGAAACATTACCTTCCATGCAGATATATGCACACTTTCTG
AGAAGGAGAGACAAATCAAGAAACAACTGCACCTGTTGAGCTCGTGAAACACAAGCCCA
AGGCAACAAAAGAGCAACTGAAAGCTGTTATGGATGATTTTCGCAGCTTTTGTAGAGAAGT
GCTGCAAGGCTGACGATAAGGAGACCTGCTTTGCCGAGGAGGGTAAAAAATTTGTTGCTG
CAAGTCAAGCTGCCTTAGGCTTATGA

73. SEQ ID NO: 35 (Secuencia de Señal subrayada)

20

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCP
FEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPE
RNECFLQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKR
YKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRCKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQ
RFPKAFAEVSCLVTDLTQVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLE
KSHCIAEV

74. SEQ ID NO: 71 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 35)

5 CL_#1050_HSA-1_293_CH-A_L198C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGTGCTGCTGTGCCGAGCT
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGAGATGCACACAAGAGTGAGGTTGCTCATCGGTTTA
AAGATTTGGGAGAAGAAAATTTCAAAGCCTTGGTGTGATTGCCTTTGCTCAGTATCTTCA
GCAGTGTCCATTTGAAGATCATGTAAAATTAGTGAATGAAGTAACTGAATTTGCAAAAACA
TGTGTTGCTGATGAGTCAGCTGAAAATTGTGACAAATCACTTCATACCCTTTTGGAGACA
AATTATGCACAGTTGCAACTCTTCGTGAAACCTATGGTGAAATGGCTGACTGCTGTGCAAA
ACAAGAACCTGAGAGAAAATGAATGCTTCTTGCAACACAAAGATGACAACCCAAACCTCCC
CCGATTGGTGAGACCAGAGGTTGATGTGATGTGCACTGCTTTTCATGACAATGAAGAGACA
TTTTTGAAAAAATACTTATATGAAATTGCCAGAAGACATCCTTACTTTTATGCCCCGGA
CCTTTTCTTTGCTAAAAGGTATAAAGCTGCTTTTACAGAATGTTGCCAAGCTGCTGATAAAG
CTGCCTGCCTGTTGCCAAGCTCGATGAACTTCGGGATGAAGGGAAGGCTTCGTCTGCCAA
ACAGAGATGCAAGTGTGCCAGTCTCCAAAAATTTGGAGAAAGAGCTTTCAAAGCATGGGC
AGTAGCTCGCCTGAGCCAGAGATTTCCCAAAGCTGAGTTTGCAGAAGTTTCCAAGTTAGTG
ACAGATCTTACCAAAGTCCACACGGAATGCTGCCATGGAGATCTGCTTGAATGTGCTGATG
ACAGGGCGGACCTTGCCAAGTATATCTGTGAAAATCAAGATTCGATCTCCAGTAAACTGAA
GGAATGCTGTGAAAAACCTCTGTTGGAAAAATCCCACTGCATTGCCGAAGTGTGA

75. SEQ ID NO: 36 (Secuencia de Señal subrayada)

10

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFGLGMFLYEYARR
HPDYSVVLRLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGE
YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLCLQCV
LHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQT
ALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAAASQAALGL

76. SEQ ID NO: 72 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 36)

15 CL_#1055_HSA-304_585_CH-B_N458C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGTCTGCTGCTGTCCGGAGCT
 CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGATCATTAGCTGCTGATTTTGTGAAAGTAAGGATG
 TTTGCAAAAACCTATGCTGAGGCAAAGGATGTCTTCCTGGGCATGTTTTGTATGAATATGC
 AAGAAGGCATCCTGATTACTCTGTCGTGCTGCTGCTGAGACTTGCCAAGACATATGAAACC
 ACTCTAGAGAAGTGTGTGCCGCTGCAGATCCTCATGAATGCTATGCCAAAGTGTTTCGATG
 AATTTAAACCTCTTGTGGAAGAGCCTCAGAATTTAATCAAACAAAATTGTGAGCTTTTTGA
 GCAGCTTGGAGAGTACAAATTCCAGAATGCGCTATTAGTTCGTTACACCAAGAAAGTACCC
 CAAGTGTCAACTCCAACCTCTGTAGAGGTCTCAAGAAACCTAGGAAAAGTGGGCAGCAAA
 TGTGTAAACATCCTGAAGCAAAAAGAATGCCCTGTGCAGAAGACTATCTATCCGTGGTCC
 TGTGCCAGTTATGTGTGTTGCATGAGAAAACGCCAGTAAGTGACAGAGTCACCAAATGCTG
 CACAGAATCCTTGGTGAACAGGCGACCATGCTTTTCAGCTCTGGAAGTCGATGAAACATAC
 GTTCCCAAAGAGTTTAAATGCTGAAACATTACCTTCCATGCAGATATATGCACACTTTCTGA
 GAAGGAGAGACAAATCAAGAAACAACTGCCTTGTGAGCTCGTGAAACACAAGCCCAA
 GGCAACAAAAGAGCAACTGAAAGCTGTTATGGATGATTTTCGAGCTTTTGTAGAGAAGTG
 CTGCAAGGCTGACGATAAGGAGACCTGCTTTGCCGAGGAGGGTAAAAAAGCTTGTGCTGC
 AAGTCAAGCTGCCTTAGGCTTATGA

77. SEQ ID NO: 37 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCP
 FEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPE
 RNECFLQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKR
 YKAAFECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSCKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQR
 FPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEK
 SHCIAEV

78. SEQ ID NO: 73 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 37)

CL_#1049_HSA-1_293_CH-A_A194C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGTCTGCTGCTGTCCGGAGCT
 CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGAGATGCACACAAGAGTGAGGTTGCTCATCGGTTTA
 AAGATTTGGGAGAAGAAAATTTCAAAGCCTTGGTGTGATTGCCTTTGCTCAGTATCTTCA
 GCAGTGTCCATTTGAAGATCATGTAAAATTAGTGAATGAAGTAACTGAATTTGCAAAAACA
 TGTGTTGCTGATGAGTCAGCTGAAAATTGTGACAAATCACTTCATACCCTTTTTGGAGACA
 AATTATGCACAGTTGCAACTCTTCGTGAAACCTATGGTGAAATGGCTGACTGCTGTGCAAA
 ACAAGAACCTGAGAGAAATGAATGCTTCTTGCAACACAAAGATGACAACCCAAACCTCCC
 CCGATTGGTGAGACCAGAGGTTGATGTGATGTGCACTGCTTTTCATGACAATGAAGAGACA
 TTTTGTAAAAAATACTTATATGAAATTGCCAGAAGACATCCTTACTTTTATGCCCGGAACT
 CTTTTCTTTGCTAAAAGGTATAAAGCTGCTTTTACAGAATGTTGCCAAGCTGTGATAAAG
 CTGCCTGCCTGTTGCCAAAGCTCGATGAACTTCGGGATGAAGGGAAGGCTTCGTCTTGCAA
 ACAGAGACTCAAGTGTGCCAGTCTCCAAAAATTTGGAGAAAGAGCTTTCAAAGCATGGGC
 AGTAGCTCGCCTGAGCCAGAGATTTCCCAAAGCTGAGTTTGCAGAAGTTTCAAAGTTAGTG
 ACAGATCTTACCAAAGTCCACACGGAATGCTGCCATGGAGATCTGCTTGAATGTGCTGATG
 ACAGGGCGGACCTTGCCAAGTATATCTGTGAAAATCAAGATTCGATCTCCAGTAAACTGAA
 GGAATGCTGTGAAAAACCTCTGTTGGAAAAATCCCACTGCATTGCCGAAGTGTGA

79. SEQ ID NO: 38 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARR
HPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGE
YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSCVLNQLCV
LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQT
ALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAAASQAALGL

80. SEQ ID NO: 74 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 38)

5 CL_#1054_HSA-304_585_CH-B_V455C

GCCACTATGGCTGTGATGGCCCCTAGGACCCTGGTGTGCTGCTGTCCGGAGCT
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGATCATTAGCTGCTGATTTTGTGAAAGTAAGGATG
TTTGCAAAAACCTATGCTGAGGCAAAGGATGTCTTCTGGGCATGTTTTGTATGAATATGC
AAGAAGGCATCCTGATTACTCTGTCGTGCTGCTGCTGAGACTTGCCAAGACATATGAAACC
ACTCTAGAGAAGTGCTGTGCCGCTGCAGATCCTCATGAATGCTATGCCAAAGTGTTTCGATG
AATTTAAACCTCTTGTGGAAGAGCCTCAGAATTTAATCAAACAAAATTGTGAGCTTTTTGA
GCAGCTTGGAGAGTACAAATTCAGAATGCGCTATTAGTTCGTTACACCAAGAAAGTACCC
CAAGTGTCAACTCCAACCTCTGTAGAGGTCTCAAGAAACCTAGGAAAAGTGGGCAGCAAA
TGTTGTAAACATCCTGAAGCAAAAAGAATGCCCTGTGCAGAAGACTATCTATCCTGCGTCC
TGAACCAGTTATGTGTGTTGCATGAGAAAACGCCAGTAAGTGACAGAGTCACCAAATGCT
GCACAGAATCCTTGGTGAACAGGCGACCATGCTTTTCAGCTCTGGAAGTCGATGAAACATA
CGTTCCCAAAGAGTTTAATGCTGAAACATTCACCTTCCATGCAGATATATGCACACTTTCTG
AGAAGGAGAGACAAATCAAGAAACAAACTGCACCTGTTGAGCTCGTGAAACACAAGCCCA
AGGCAACAAAAGAGCAACTGAAAGCTGTTATGGATGATTTTCGAGCTTTTGTAGAGAAGT
GCTGCAAGGCTGACGATAAGGAGACCTGCTTTGCCGAGGAGGGTAAAAAAGCTTGTGCTG
CAAGTCAAGCTGCCTTAGGCTTATGA

81. SEQ ID NO: 39 (Secuencia de Señal subrayada)

10

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCP
FEDHVKLNVNEVEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPE
RNECFLQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKR
YKAAFECCQAADKAACLLPKLDELREDEKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQ
RFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLE
KSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPGGGGS

82. SEQ ID NO: 75 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 39).

GCCACTATGGCTGTGATGGCACCTAGAACACTGGTCCTGCTGCTGTCAGGGGCA
CTGGCACTGACTCAGACTTGGGCTGGAGATGCTCATAAGAGCGAGGTCGCTCACAGGTTG
AAGGATCTGGGGGAGGAAAACCTTTAAAGCCCTGGTGTGATCGCATTGCCCCAGTACCTG
CAGCAGTGCCCCCTTTGAGGACCACGTGAAGCTGGTCAACGAGGTGACAGAGTTCGCCAAA
ACTTGCGTCGCCGACGAGTCAGCTGAAAATTGTGATAAGAGCCTGCATACTCTGTTTTGGG
GATAAACTGTGCACCGTGGCCACACTGAGGGAGACCTATGGAGAAATGGCAGACTGCTGT
GCCAAGCAGGAGCCCGAACGCAACGAGTGCTTCTGCAGCATAAAGACGATAACCCCAAT
CTGCCTCGACTGGTGCGGCCTGAAGTGGACGTCATGTGTACCGCTTTCCACGATAATGAG
GAAACATTTCTGAAGAAATACCTGTATGAGATTGCCCCGAGACATCCTTACTTTTATGCT

15

CCAGAACTGCTGTTCTTTGCAAAGCGGTACAAAGCCGCTTTCACAGAGTGCTGTCAGGCA
 GCCGATAAGGCTGCATGCCTGCTGCCAAAAGTGGACGAGCTGCGCGATGAAGGCAAGGCC
 AGCTCCGCTAAGCAGCGACTGAAATGTGCCTCTCTGCAGAAAGTTCGGGGAGCGGGCTTTT
 AAAGCTTGGGCAGTCGCCAGACTGAGTCAGAGGTTCCCCAAGGCAGAGTTTGCCGAAGTC
 TCAAAGCTGGTGACTGACCTGACCAAAGTGCACACCGAGTGCTGTCATGGAGACCTGCTG
 GAATGCGCCGACGATAGAGCTGATCTGGCAAAGTACATCTGTGAGAATCAGGACAGCATT
 TCTAGTAAGCTGAAAGAGTGCTGTGAAAAGCCTCTGCTGGAGAAATCCCACTGCATCGCA
 GAGGTGGAACACGACGAAATGCCAGCAGATCTGCCATCCCTGGCAGCTGACTTTGTGCGAG
 TCTAAGGATGTGTGTAATAATTATGCTGAAGCAAAGGATGTGTTCTGGGCATGTTTCTG
 TACGAGTATGCAAGGCGACATCCAGGAGGAGGAGGCTCCTGA

83. SEQ ID NO: 40 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGGGGSDYSVLLLLRLAKTYETTLKCCAAADPHE
 CYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQNCLEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLG
 KVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEV
 DETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVE
 KCKKADDKETCFAEEGKKLVAAASQAALGL

5

84. SEQ ID NO: 76 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 40).

GCCACTATGGCTGTGATGGCACCTAGAACCTGGTCCTGCTGCTGAGCGGCGCA
 CTGGCACTGACACAGACTTGGGCTGGGGGGGGGGGGGGAGCGACTACTCCGTGGTCCTG
 CTGCTGCGGCTGGCAAAAAGTTATGAGACCACACTGGAAAAGTGCTGTGCCGCTGCAGAC
 CCTCACGAGTGCTACGCCAAAGTGTTGATGAGTTCAAGCCCCTGGTCGAGGAACCTCAG
 AACCTGATCAAACAGAATTGTGAGCTGTTTGAACAGCTGGGGGAGTACAAGTTTCAGAAC
 GCCCTGCTGGTGCGGTATACAAAGAAAGTGCCACAGGTCTCTACTCCCACCCTGGTGGAG
 GTCAGTAGGAATCTGGGCAAAGTGGGGTCAAAATGCTGTAAGCACCTGAGGCCAAGCGC
 ATGCCATGCGCTGAAGACTACCTGTCTGTGGTCCTGAACCAGCTGTGTGTGCTGCATGAG
 AAAACCCCAAGTGAGTGATCGAGTCACCAAGTGCTGTACAGAGAGCCTGGTGAACCGGAGA
 CCCTGCTTCTCCGCTCTGGAGGTGGACGAAACATATGTCCCTAAGGAGTTTAATGCAGAA
 ACATTCACTTTTCACGCCGATATCTGTACTCTGTCCGAGAAGGAAAGACAGATTAAGAAA
 CAGACCGCCCTGGTGGAGCTGGTCAAGCATAAACCCAAGGCTACAAAAGAACAGCTGAAG

10

GCAGTGATGGACGATTTGCGCGCTTTTGTGGAGAAATGCTGTAAGGCCGACGATAAGGAA
 ACTTGCTTCGCTGAGGAAGGAAAGAACTGGTGGCAGCCAGCCAGGCTGCACTGGGCTG
 TGA

15 85. SEQ ID NO: 41 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCP
FEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPE
RNECFLQHKKDDNPRLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKR
YKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQ
RFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLE
KSHCIAEVENDEMPAGGGGS

86. SEQ ID NO: 77 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 41).

GCCACTATGGCCGTGATGGCACCTAGAACACTGGTCCTGCTGCTGAGCGGGGCA
CTGGCACTGACACAGACTTGGGCTGGAGACGCACACAAATCTGAGGTCGCTCACCGGTTT
AAGGATCTGGGCGAGGAAAACCTTTAAAGCCCTGGTGCTGATCGCCTTCGCTCAGTACCTG
CAGCAGTGCCCTTTTGAGGACCACGTGAAGCTGGTCAACGAGGTGACAGAGTTCGCCAAA
ACTTGCGTCGCAGACGAGTCAGCCGAAAATTGTGATAAGAGCCTGCATACTCTGTTTGGG
GATAAACTGTGTACCGTGGCCACACTGCGCGAGACCTATGGAGAAATGGCTGACTGCTGT
GCAAAGCAGGAGCCCGAACGAAACGAGTGCTTCCTGCAGCATAAAGACGATAACCCCAAT
CTGCCTAGGCTGGTGCGCCCTGAAGTGACGTCATGTGTACCGCTTTCACGATAATGAG
GAAACATTTCTGAAGAAATACCTGTATGAGATTGCCCCGAGACATCCATACTTTTATGCC
CCCGAACTGCTGTTCTTTGCTAAGAGATACAAAGCCGCTTTCACAGAGTGCTGTCAGGCA
GCCGATAAGGCTGCATGCCTGCTGCCAAAACCTGGACGAGCTGAGAGATGAAGGCAAGGCA
AGCTCCGCCAAGCAGAGGCTGAAATGTGCAAGCCTGCAGAAGTTCGGGGAGAGGGCCTTT
AAAGCATGGGCAGTCGCTCGACTGTCCCAGCGATTCCCCAAGGCTGAGTTTGCAGAAGTC
TCTAAGCTGGTGACTGATCTGACCAAAGTGCACACCGAGTGCTGTGATGGCGACCTGCTG
GAATGCGCCGACGATCGCGCCGATCTGGCTAAGTATATCTGTGAGAACCAGGACAGTATT
TCTAGTAAGCTGAAAGAGTGCTGTGAAAAGCCTCTGCTGGAGAAATCACACTGCATCGCT
GAGGTGGAAAATGACGAAATGCCAGCAGGCGGGGGAGGCTCCTGA

87. SEQ ID NO: 42 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGGGGGSDLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVF
LGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQN
LIKQNCLEFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRM
PCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET
FTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKET
CFAEEGKKLVAASQAALGL

88. SEQ ID NO: 78 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 42).

GCCACTATGGCCGTGATGGCACCTAGAACCCTGGTCCTGCTGCTGAGCGGGGCA
 CTGGCACTGACACAGACTTGGGCTGGGGGGGGGGGGGGCAGCGACCTGCCATCCCTGGCA
 GCTGACTTCGTGGAGTCAAAAGATGTCTGCAAGAACTACGCAGAAGCCAAGGACGTGTTT
 CTGGGGATGTTTCTGTACGAGTATGCTCGGAGACACCCAGATTACAGCGTGGTCCTGCTG
 CTGCGCCTGGCCAAAACCTTATGAGACCACACTGGAAAAGTGCTGTGCAGCCGCTGACCCC
 CATGAGTGCTATGCCAAAGTGTTTCGATGAGTTCAAGCCCCCTGGTCGAGGAACCTCAGAAC
 CTGATCAAACAGAATTGTGAGCTGTTTGAACAGCTGGGCGAGTACAAGTTTCAGAACGCC
 CTGCTGGTGCGATATACAAAGAAAGTGCCACAGGTCTCTACTCCCACCCTGGTGGAGGTC
 AGTCGAAATCTGGGCAAAGTGGGGTCAAATGCTGTAAGCACCTGAGGCTAAGCGGATG
 CCATGCGCAGAAGACTACCTGTCTGTGGTCCTGAATCAGCTGTGTGTGCTGCATGAGAAA
 ACCCCTGTGAGTGATAGAGTCACCAAGTGCTGTACAGAAAGCCTGGTGAACAGGCGACCA
 TGCTTCTCCGCACTGGAGGTGGACGAAACATATGTCCCTAAAGAGTTTAATGCCGAAACA
 TTCACTTTTACGCTGATATCTGTACTCTGTCCGAGAAGGAAAGGCAGATTAAGAAACAG
 ACCGCCCTGGTGGAGCTGGTCAAGCATAAACCAAGGCAACAAAAGAAGCTGAAGGCC
 GTGATGGACGATTTTCGCAGCCTTTGTGGAGAAATGCTGTAAGGCTGACGATAAGGAACT
 TGTTTTGCAGAGGAAGGAAAGAAACTGGTGGCTGCATCTCAGGCCGCTCTGGGCCTGTGA

89. SEQ ID NO: 43 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYL
 QQCPFEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCC
 AKQEPERNECFLQHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYA
 PELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAF
 KAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTQVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSI
 SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFGLMFLYFY
 5 ARRHPDYSVVLRLAKTYETTLKCCAAAGGGGS

90. SEQ ID NO: 79 Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 43

GCCACTATGGCTGTGATGGCTCCAAGAACCCTGGTCCTGCTGCTGTCCGGGGCACTGGCTC
 TGA CTCAGACATGGGCTGGGGATGCTCATAAGTCTGAGGTCGCCCACCGATTCAAGGATCT
 GGGGGAGGAAAACCTTTAAAGCTCTGGTGTGATCGCATTGCCCCAGTACCTGCAGCAGTGC
 CCCTTTGAGGACCACGTGAAGCTGGTCAACGAGGTGACCGAGTTCGCCAAAACATGCGTC
 GCCGACGAGTCAGCTGAAAATTGTGATAAGAGCCTGCATACACTGTTTGGGGATAAACTGT
 GCACTGTGGCCACCCTGCGGGAGACTTATGGAGAAATGGCAGACTGCTGTGCCAAGCAGG
 AGCCCGAAAGAAACGAGTGCTTCCTGCAGCATAAAGACGATAACCCCAATCTGCCTCGAC
 TGGTGCGGCCTGAAGTGGACGTCATGTGTACTGCCTTCCACGATAATGAGGAAACCTTTCT
 GAAGAAATACCTGTATGAGATTGCCCCGAGACATCCTTACTTTTATGCT
 CCAGAACTGCTGTTCTTTGCAAAGCGCTACAAAGCCGCTTTCACCGAGTGCTGTCAGGCAG
 CCGATAAGGCTGCATGCCTGCTGCCAAAACCTGGACGAGCTGCGCGATGAAGGCAAGGCCA
 GCTCCGCTAAGCAGCGACTGAAATGTGCCAGCCTGCAGAAGTTCGGGGAGAGGGCTTTTA
 AAGCTTGGGCAGTGGCCAGACTGAGTCAGAGGTTCCCCAAGGCAGAGTTTGCCGAAGTCT
 CAAAGCTGGTGACAGACCTGACTAAAGTGACACAGAGTGCTGTGATGGAGACCTGCTGG
 AATGCGCCGACGATCGCGCTGATCTGGCAAAGTACATCTGTGAGAATCAGGACAGCATTTC
 TAGTAAGCTGAAAGAGTGCTGTGAAAAGCCTCTGCTGGAGAAATCCCACTGCATCGCAGA
 GGTGGAAAACGACGAAATGCCAGCTGATCTGCCCTCCCTGGCCGCTGACTTTGTGAGTCT
 AAGGATGTGTGTAATAATTATGCTGAAGCAAAGGATGTGTTCTGCGCATGTTTCTGTACG
 AGTATGCCAGGCGCCATCCAGACTACTCTGTGGTCCTGCTGCTGAGACTGGCCAAG
 ACCTATGAGACCACACTGGAAAAATGCTGTGCAGCCGCTGGCGGGGGAGGCAGTTGA

91. SEQ ID NO: 44 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGGGGGSDPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQ
 NCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKKHPEAKRMPCAE
 DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFH
 ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAE
 EGKKLVAAASQAALGL

5

92. SEQ ID NO: 80 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 44).

GCCACTATGGCTGTGATGGCACCTAGAACCCCTGGTCCTGCTGCTGTCCGGGGCA
 CTGGCACTGACTCAGACTTGGGCTGGGGGAGGCGGGGGCAGCGACCCTCACGAGTGCTAC
 GCAAAAGTGTTTCGATGAGTTCAAGCCCCTGGTCGAGGAACCTCAGAACCTGATCAAACAG
 AATTGTGAGCTGTTTCGAACAGCTGGGGGAGTACAAGTTTCAGAACGCTCTGCTGGTGCGG
 TATACCAAGAAAGTGCCACAGGTCAGCACCCCCACACTGGTGGAGGTCTCCAGGAATCTG
 GGCAAAGTGGGGTCTAAATGCTGTAAGCACCCCTGAGGCCAAGCGCATGCCATGCGCTGAA
 GACTACCTGAGCGTGGTCCTGAACCAGCTGTGTGTGCTGCATGAGAAAACACCAGTGTCC
 GATCGAGTCACAAAGTGCTGTACTGAGAGTCTGGTGAACCGGAGACCCTGCTTCTCAGCC
 CTGGAGGTGGACGAACTTATGTCCCTAAG**GAG**TTTAATGCAGAACTTTACCTTTTAC
 GCCGATATCTGTACCCTGTCTGAGAAGGAAAGACAGATTAAGAAACAGACAGCCCCTGGTG
 GAGCTGGTCAAGCATAAACCCAAGGCTACTAAAGAACAGCTGAAGGCAGTGATGGACGAT
 TTCGCCGCTTTTGTGAGAAATGCTGTAAGGCCGACGATAAGGAAACCTGCTTCGCTGAG
 GAAGGAAAGAACTGGTGGCAGCCAGCCAGGCTGCACTGGGCCTGTGA

93. SEQ ID NO: 45 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQ
 QCPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA
 KQEPERNECFLQH KDDNPNL PRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPE
 LLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKA
 WAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSK
 LKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVE
 SKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSV VLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECY
 AKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC ELFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLG
 5 KVGSKCCKHPGGGS

94. SEQ ID NO: 81 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 45).

GCCACTATGGCTGTGATGGCACCTCGCACCCCTGGTCCTGCTGCTGTCCGGGGCACTGGC
 ACTGACTCAGACTTGGGCTGGAGATGCTCATAAGTCTGAGGTCGCTCACAGATTCAAGG
 ATCTGGGCGAGGAAAACCTTTAAAGCACTGGTGCTGATCGCATTGCCCCAGTACCTGCAG
 CAGTGCCCCCTTTGAGGACCACGTGAAGCTGGTCAACGAAGTGACTGAGTTCGCCAAA
 ACCTGCGTCGCCGACGAGTCAGCTGAAAATTGTGATAAGAGCCTGCATACCCTGTTTGG
 CGATAAACTGTGCACAGTGGCCACTCTGCGGGAGACATATGGGGAAATGGCAGACTGC
 TGTGCCAAGCAGGAGCCTGAAAGAAACGAGTGCTTCCTGCAGCATAAAGACGATAACC
 CCAATCTGCCTCGACTGGTGCGGCCAGAAGTGGACGTCATGTGTACAGCCTTCCACGAT
 AATGAG
 GAAACTTTTCTGAAGAAATACCTGTATGAGATTGCTCGGAGACATCCTTACTTTTATGC
 TCCAGAACTGCTGTTCTTTGCAAAGAGGTACAAAGCCGCTTTCACCGAGTGCTGTCAGG
 CAGCCGATAAGGCTGCATGCCTGCTGCCAAAACCTGGACGAGCTGCGCGATGAAGGAAA
 GGCCAGCTCCGCTAAGCAGCGACTGAAATGTGCCAGCCTGCAGAAGTTCGGCGAGCGA
 GCTTTT
 AAAGCTTGGGCAGTGGCCAGACTGTCCCAGAGGTTCCCCAAGGCAGAGTTTGCCGAAG
 TCTCTAAGCTGGTGACCGACCTGACAAAAGTGCACACCGAGTGCTGTCATGGGGACCT
 GCTGGAATGCGCCGACGATCGCGCTGATCTGGCAAAGTACATCTGTGAGAATCAGGAC
 AGTATTTCTAGTAAGCTGAAAGAGTGCTGTGAAAAGCCTCTGCTGGAGAAATCACACT

GCATCGCA
 GAGGTGGAAAACGACGAAATGCCAGCAGATCTGCCATCCCTGGCAGCTGACTTCGTGCG
 AGTCTAAGGATGTGTGTAAAAATTACGCTGAAGCAAAGGATGTGTTCTGGGGATGTTT
 CTGTACGAGTATGCCAGGCGCCACCCCGACTACAGTGTGGTCCTGCTGCTGCGGCTGGC
 TAAGACTTATGAGACCACACTGGAAAAATGCTGTGCAGCCGCTGATCCTCATGAGTGCT
 ATGCC
 AAGGTCTTCGACGAGTTCAAGCCCCTGGTGGAGGAACCTCAGAACCTGATTAAGCAGA
 ATTGTGAGCTGTTTGAACAGCTGGGAGAGTACAAATTCCAGAACGCCCT**IG**CTGGTGAG
 GTATACAAAGAAAGTGCCACAGGTGAGTACTCCACCCCTGGTGGAAGTCTCACGCAAT
 CTGGGGAAGGTCGGAAGCAAGTGCTGTAAACACCCAGGCGGGGGAGGCTCCTGA

5

95. SEQ ID NO: 46 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQ**TWAG**GGGGSEAKRMP**CAEDY**LSVVLNQLC**VL**HEKT
 PVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALE**VD**E**TY**VPKEF**NAET**FTFHADICTLSEKERQIKKQT
 ALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEK**CK**AD**DK**ETCFAEEGKKLVAASQAALGL

10

96. SEQ ID NO: 82 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 46).

GCCACTATGGCTGTGATGGCACCTAGAACACTGGTCCTGCTGCTGAGCGGGGCA
 CTGGCACTGACACAGACTTGGGCTGGAGGGGGAGGGGGGTCTGAGGCCAAAAGGATG
 CCA
 TGCCTGAAGACTACCTGAGTGTGGTCCTGAACCAGCTGTGTGTGCTGCACGAGAAAA
 CT
 CCCGTGTCAGATCGCGTCACTAAGTGTGTACCGAGAGCCTGGTGAACCGGAGACCCT
 GC
 TTCTCCGCCCTGGAGGTGGACGAAACATATGTCCCTAAAGAGTTTAATGCAGAAACCTT
 C
 ACATTTACGCCGATATCTGTACACTGAGCGAGAAGGAACGACAGATTAAGAAACAGA
 CT
 GCCCTGGTGGAGCTGGTCAAGCATAAACCCAAGGCTACCAAAAGAACAGCTGAAGGCAG
 TG

ATGGACGATTTGCGCGCTTTTGTGAGAAATGCTGTAAGGCCGACGATAAGGAAACAT
 GC

5 TTCGCTGAGGAAGGCAAGAACTGGTGGCAGCCTCTCAGGCTGCACTGGGGCTGTGA

97. SEQ ID NO: 47 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQ
 QCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCCKSLHTLFGDKLCTVATLRETGGGGS

10

98. SEQ ID NO: 83 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 47).

GCCACTATGGCTGTGATGGCTCCAAGAACACTGGTCCTGCTGCTGTCCGGGGCACTGGC
 ACTGACTCAGACCTGGGCTGGGGATGCTCATAAATCTGAGGTCGCTACCGGTTCAAGG
 ACCTGGGGGAGGAAAACCTTTAAAGCACTGGTGTGATCGCCTTCGCTCAGTACCTGCAG
 CAGTGCCCTTTGAAGATCACGTGAAGCTGGTCAACGAAGTACTGAGTTCGCCAAAA
 CCTGCGTCGCAGACGAGAGCGCCGAAAATTGTGATAAGTCCCTGCATACACTGTTTGGC
 GACAACTGTGTACCGTGGCTACACTGAGAGAGACCGGCGGGGGAGGCAGCTGA

15 99. SEQ ID NO: 48 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGGGGGSGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP
 NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQA
 ADKAAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEV
 SKLVTDLTQVHTECHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECKEPLLEKSHCIAEV
 ENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKT
 YETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTK
 KVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRV
 TKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKH
 KPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEKGKLVAAASQAALGL

100. SEQ ID NO: 84 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 48).

GCCACTATGGCTGTGATGGCACCTAGAACCCTGGTCCTGCTGCTGAGCGGGGCA
CTGGCACTGACACAGACTTGGGCTGGGGGGGGGGGGGGCAGCGGCGAGATGGCTGACT
GC
TGTGCAAAACAGGAGCCAGAAAGGAACGAATGCTTCCTGCAGCACAAGGACGATAACC
CC
AATCTGCCTAGACTGGTGAGGCCCAGGTGGACGTCATGTGTACAGCCTTCCACGATAA
T
GAGGAAACTTTTCTGAAGAAATACCTGTATGAGATCGCCCGGAGACATCCTTACTTCTA

5

T
GCACCAGAACTGCTGTTCTTTGCCAAACGCTACAAGGCCGCTTTTACCGAGTGCTGTCA
G
GCAGCCGATAAAGCTGCATGCCTGCTGCCAAAGCTGGACGAGCTGCGAGATGAAGGGA
AG
GCTAGCTCCGCAAAACAGAGACTGAAGTGTGCTAGCCTGCAGAAATTCGGAGAGCGAG
CC
TTCAAGGCATGGGCAGTGGCTCGACTGTCCCAGCGATTCCCTAAGGCCGAGTTTGCTGA
A
GTGTCTAAACTGGTCACCGACCTGACAAAGGTGCACACCGAGTGCTGTCATGGCGACCT
G
CTGGAATGCGCCGACGATCGCGCAGATCTGGCCAAGTACATCTGTGAGAACCAGGACA
GC
ATTTCTAGTAAGCTGAAAGAGTGCTGTGAAAAACCTCTGCTGGAGAAGTCCCACTGCAT
C
GCCGAGGTGGAAAACGACGAAATGCCAGCTGATCTGCCCTCACTGGCCGCTGACTTTGT
G
GAGAGCAAAGATGTCTGTAAGAATTACGCAGAAGCCAAGGATGTGTTCTGGGCATGT
TT
CTGTACGAGTATGCCAGGCGCCACCCTGACTACTCCGTGGTCCTGCTGCTGAGGCTGGC
T
AAAACCTATGAGACCACACTGGAAAAGTGCTGTGCAGCCGCTGATCCACATGAGTGCT
AT
GCCAAAGTGTTTCGACGAGTTCAAGCCCCTGGTCGAGGAACCTCAGAACCTGATCAAGC
AG
AATTGTGAGCTGTTTCGAACAGCTGGGGGAGTACAAGTTTCAGAACGCCCTGCTGGTGA
GA
TATACAAAGAAAGTGCCACAGGTCTCCACTCCCACCCTGGTGGAGGTCTCTAGGAATCT
G
GGCAAAGTGGGGAGTAAATGCTGTAAGCACCTGAGGCCAAGCGCATGCCATGCGCTG
AA
GATTACCTGAGTGTGGTCCTGAATCAGCTGTGTGTGCTGCATGAGAAAACACCAGTGTC
A
GACCGGGTCACTAAGTGCTGTACCGAATCACTGGTGAACCGACGACCATGCTTCAGCG
CA
CTGGAGGTGGATGAACTTATGTCCCTAAGGAGTTTAATGCTGAAACATTCACCTTTTCA
C
GCAGACATCTGCACCCTGTCTGAGAAGGAAAGACAGATTAAGAAACAGACAGCCCTGG
TG
GAGCTGGTCAAGCATAAACCCAAAGGCCACTAAAGAACAGCTGAAGGCTGTGATGGACG
AT
TTCGCAGCCTTTGTGCGAGAAATGCTGTAAGGCAGACGATAAGGAAACCTGCTTCGCCG
AG
GAAGGAAAGAACTGGTGGCTGCAAGTCAGGCCGCTCTGGGCCTGTGA

101. SEQ ID NO: 49 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQ
QCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA
KQEPERNECFLQHKDDNP NLPR LVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPE
LLFFAKRYKAAFTECCQAGGGGS

5

102. SEQ ID NO: 85 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 49).

GCCACTATGGCCGTGATGGCACCTCGAACACTGGTCCTGCTGCTGTCCGGGGCA
 CTGGCACTGACTCAGACCTGGGCTGGAGATGCTCATAAATCTGAGGTGCTCACCGGTT
 C
 AAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTTTAAAGCACTGGTGCTGATCGCATTGCCCCAGTACC
 TG
 CAGCAGTGCCCCCTTTGAGGATCACGTGAAGCTGGTCAACGAAGTGACTGAGTTCGCAA
 AA
 ACCTGCGTCGCTGACGAGAGCGCAGAAAATTGTGATAAGTCCCTGCATACCCTGTTTGG
 G
 GACAAACTGTGTACCGTGGCTACACTGCGAGAGACATATGGAGAAATGGCCGATTGCT
 GT
 GCTAAGCAGGAGCCTGAAAGAAACGAGTGCTTCCTGCAGCATAAAGACGATAACCCCA
 AT
 CTGCCTAGGCTGGTGCGCCCAGAAGTGGACGTCATGTGTACAGCCTTCCACGATAATGA
 G
 GAAACTTTTCTGAAGAAATACCTGTATGAGATTGCTCGGAGACATCCATACTTTTATGC
 A
 CCCGAACTGCTGTTCTTTGCCAAGCGGTACAAAGCCGCTTTCACCGAGTGCTGTCAGGC
 C
 GGCGGGGGAGGCAGCTGA

103. SEQ ID NO: 50 (Secuencia de Señal subrayada)

5

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGGGGGGSADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQR
 LKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDR

ADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKD VCK
 NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEF
 KPLVEEPQNLIKQNCLEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKC
 CKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETY
 VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEK
 CCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL

10

104. SEQ ID NO: 86 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 50).

GCCACTATGGCTGTGATGGCTCCTAGAACCCTGGTCCTGCTGCTGTCCGGGGCACTGGC
 ACTGACTCAGACTTGGGCTGGGGGGGGGGGGGGGGTCTGCCGATAAAGCCGCTTGCCTG
 CTGCCCCAAGCTGGACGAGCTGAGAGATGAAGGGAAGGCCAGCTCCGCTAAACAGAGG
 CTGAAGTGTGCAAGTCTGCAGAAATTCGGAGAGAGGGCCTTTAAGGCTTGGGCAGTGG
 CACGACTGTCCAGCGATTCCCTAAGGCAGAGTTTGCCGAAGTGTCTAAACTGGTCACC
 GACCTGACAAAGGTGCACACCGAGTGTGTCATGGCGACCTGCTGGAATGCGCCGACG
 ATCGCGCTGATCTGGCAAAGTACATCTGTGAGAACCAGGACAGCATTCTAGTAAGCTG
 AAAGAGTGTGTGAAAAACCTCTGCTGGAGAAAGTCCCACTGCATCGCTGAGGTGGAAA
 ACGACGAAATGCCCGCAGATCTGCCTTCACTGGCAGCCGACTTCGTGGAGAGCAAAGA
 TGTCTGTAAG
 AATTACGCTGAAGCAAAGGATGTGTTCTGGGCATGTTTCTGTACGAGTATGCCCCGAG
 ACACCTGACTACTCCGTGGTCCTGCTGCTGAGGCTGGCTAAACATATGAGACCACAC
 TGGAAAAGTGTGTGCTGCAGCCGATCCACATGAGTGTCTATGCCAAAGTGTTTCGACGA
 GTTCAAGCCACTGGTCGAGGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAATTGTGAGCTGTTT
 GAACAGCTGGGGGAGTACAAGTTTCAGAACGCCCTGCTGGTGCGGTATACTAAGAAAG
 TGCCTCAGGTCTCCACTCCAACCTGGTGGAGGTCTCTCGCAATCTGGGCAAAGTGGGG
 AGTAAATGCTGTAAGCACCCGAGGCCAAGCGAATGCCTTGCGCTGAAGATTACCTGA
 GTGTGGTCCTGAATCAGCTGTGTGTGCTGCATGAGAAAACCTCCAGTGTGAGACCGGGT
 ACTAAGTGTGTACCGAGTCACTGGTGAACAGGCGACCATGCTTCAGCGCACTGGAGG
 TGGATGAAACCTATGTCCCCAAGGAGTTTAATGCAGAAACATTCACCTTCCACGCCGAC
 ATCTGTACACTGAGC
 GAGAAGGAAAGACAGATTAAGAAACAGACTGCCCTGGTGGAGCTGGTCAAGCATAAA
 CCAAGGCTACCAAAGAACAGCTGAAGGCAGTGATGGACGATTTGCTGCATTTGTCG
 AGAAATGCTGTAAGGCCGACGATAAGGAAACATGCTTTGCTGAGGAAGGAAAGAAAC
 TGGTGGCCGCTAGCCAGGCAGCCCTGGGCCTGTGA

105. SEQ ID NO: 51 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYL

5 QQCPFEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCC

AKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYA
 PELLFFAKRYKAAFTGCCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKASLQKFGERA
 F KAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSI
 SSKLKECCEKGGGGS

10

106. SEQ ID NO: 87 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 51).

GCCACTATGGCCGTGATGGCACCTAGAACCCTGGTCCTGCTGCTGAGCGGGGCA
 CTGGCACTGACACAGACTTGGGCTGGGGATGCACATAAAAGCGAGGTCGCTCACCGGT
 TC
 AAGGATCTGGGCGAGGAAAACCTTTAAAGCACTGGTGCTGATCGCCTTCGCTCAGTACCT
 G
 CAGCAGTGCCCCCTTTGAAGACCACGTGAAGCTGGTCAACGAGGTGACAGAGTTCGCCA
 AA
 ACTTGCGTCGCAGACGAGTCAGCCGAAAATTGTGATAAGAGCCTGCATACTCTGTTTGG
 G
 GATAAACTGTGTACCGTGGCCACACTGCGCGAGACCTATGGAGAAATGGCTGACTGCT
 GT
 GCAAAGCAGGAGCCTGAACGAAACGAGTGCTTCCTGCAGCATAAAGACGATAACCCCA
 AT
 CTGCCTAGGCTGGTGCGCCCAGAAGTGGACGTCATGTGTACCGCTTTCCACGATAATGA
 G
 GAAACATTTCTGAAGAAATACCTGTATGAGATTGCCCGGAGACATCCATACTTTTATGC
 C
 CCCGAAGTCTGTTCTTTGCTAAGAGATACAAAGCCGCTTTCACAGAGTGCTGTCAGGC
 A
 GCCGATAAGGCTGCATGCCTGCTGCCCAAAGTGGACGAGCTGAGAGATGAAGGCAAGG
 CA
 AGCTCCGCCAAGCAGAGGCTGAAATGTGCATCTCTGCAGAAGTTCGGGGAGAGGGCCT
 TT
 AAAGCATGGGCAGTGGCTCGACTGTCCCAGCGATTCCCTAAGGCTGAGTTTGCAGAAG
 TC

TCTAAGCTGGTGACTGACCTGACCAAAGTGCACACCGAGTGCTGTCATGGCGACCTGCT
 G
 GAATGCGCCGACGATCGCGCCGATCTGGCTAAGTATATCTGTGAGAATCAGGACAGTA
 TT

5 TCTAGTAAGCTGAAAGAGTGCTGTGAAAAGGGCGGGGGAGGCTCCTGA

107. SEQ ID NO: 52 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGGGGGSPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAA
 DFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLKCCAAADPH
 ECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVS
 RNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPC
 FSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAV
 MDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL

108. SEQ ID NO: 88 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 52).

GCCACTATGGCTGTGATGGCTCCAAGAACCCTGGTGCTGCTGCTGTCCGGGGCT
 CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCCGGGGGGGGGGGGGAAGCCCCCTGCTGGAGAAGT
 CC
 CACTGCATCGCCGAGGTGGAAAACGACGAAATGCCCGCTGATCTGCCTTCTCTGGCCGC
 T
 GACTTCGTGGAGAGTAAAGATGTCTGTAAGAATTACGCAGAAGCCAAGGACGTGTTCC
 TG
 GGGATGTTTCTGTACGAGTATGCACGGAGACACCCTGATTACTCCGTGGTCCTGCTGCT
 G
 CGCCTGGCCAAAACCTTATGAGACCACACTGGAAAAGTGCTGTGCAGCCGCTGACCCAC
 AT
 GAGTGCTATGCTAAAGTGTTTCGATGAGTTCAAGCCACTGGTCGAGGAACCCAGAACCC
 TG
 ATCAAGCAGAATTGTGAGCTGTTCGAACAGCTGGGCGAGTACAAGTTTCAGAACGCCC
 TG

5

CTGGTGCGATATACAAAGAAAGTGCCTCAGGTCTCAACTCCAACCCTGGTGGAGGTCA
GC
CGAAATCTGGGCAAAGTGGGGTCCAAATGCTGTAAGCACCCCGAGGCTAAGCGGATGC
CT
TGCGCAGAAGACTACCTGTCAGTGGTCCTGAACCAGCTGTGTGTGCTGCATGAGAAAA
CC
CCCGTGAGCGATAGAGTCACCAAGTGCTGTACAGAGTCTCTGGTGAACAGGCGCCCAT
GC
TTCAGTGCCCTGGAGGTGGACGAAACATATGTCCCCAAAGAGTTTAATGCCGAAACATT
C
ACTTTTCACGCTGATATCTGTACTCTGTCCGAGAAGGAAAGGCAGATTAAGAAACAGA
CC
GCCCTGGTGGAGCTGGTCAAGCATAAACCTAAGGCAACAAAAGAACAGCTGAAGGCCG
TG
ATGGACGATTTTCGCAGCCTTTGTCGAGAAATGCTGTAAGGCTGACGATAAGGAACTT
GC
TTTGCAGAGGAAGGAAAGAACTGGTGGCTGCATCTCAGGCCGCTCTGGGCCTGTGA

109. SEQ ID NO: 53 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYL
QQCPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCC
AKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRGGGGS

110. SEQ ID NO: 89 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 53).

GCCACTATGGCTGTCATGGCTCCAAGAACTGGTCCTGCTGCTGTCCGGGGCA
CTGGCACTGACTCAGACCTGGGCTGGGGATGCTCACAAGTCTGAGGTCGCCCACAGGTT
C
AAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTTAAAGCTCTGGTGCTGATCGCCTTCGCTCAGTACCT
G
CAGCAGTGCCCATTTGAAGATCACGTGAAGCTGGTCAACGAAGTGACTGAGTTCGCCA

AA
 ACCTGCGTCGCAGACGAGAGCGCCGAAAATTGTGATAAGTCCCTGCATACACTGTTTGG
 G
 GACAAACTGTGCACCGTGGCCACACTGCGGGAGACCTATGGAGAAATGGCTGATTGCT
 GT
 GCAAAGCAGGAGCCCGAACGGAATGAGTGTTCCTGCAGCATAAAGACGATAACCCCA
 AT
 CTGCCTAGAGGCGGGGGAGGCAGCTGA

111. SEQ ID NO: 54 (Secuencia de Señal subrayada)

ATMAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGGGGGSLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE
 IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTGCCQAADKAAACLLPKLDELRLDEGKASSAKQRLKCAS
 LQKFGERAFAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTQVHTECCHGDLLECADDRADLAK
 YICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKD
 VFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEP
 QNLIKQNCLEFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKR
 MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET
 FTFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKET
 CFAEEGKKLVAASQAALGL

5

112. SEQ ID NO: 90 (Secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de SEQ ID NO: 54).

GCCACTATGGCTGTGATGGCACCTAGAACACTGGTCCTGCTGCTGAGCGGGGCA
 CTGGCACTGACACAGACTTGGGCCGGGGGAGGGGGAGGGAGCCTGGTGAGGCCCCGAG
 GTG
 GACGTCATGTGCACAGCCTTCCACGATAACGAGGAACTTTTCTGAAGAAATACCTGTA
 T
 GAGATCGCCCGGAGACATCCATACTTCTATGCCCCGAACTGCTGTTCTTTGCTAAACG
 C
 TACAAGGCCGCTTTTACCGAGTGCTGTCAGGCAGCCGATAAAGCTGCATGCCTGCTGCC
 A
 AAGCTGGACGAGCTGCGCGATGAAGGGAAGGCTAGCTCCGCAAAACAGCGACTGAAG

10

TGT
 GCAAGCCTGCAGAAATTCGGAGAGCGAGCTTTTAAGGCATGGGCCGTGGCTAGACTGT
 CC
 CAGAGGTTCCCCAAGGCCGAGTTTGCTGAAGTGTCTAAACTGGTCACCGACCTGACAA
 AG
 GTGCACACCGAGTGCTGTCATGGCGACCTGCTGGAATGCGCCGACGATCGCGCAGATC
 TG
 GCCAAGTACATCTGTGAGAATCAGGACAGCATTTCTAGTAAGCTGAAAGAGTGCTGTG
 AA
 AAACCTCTGCTGGAGAAGTCCCCTGTCATCGCCGAGGTGGAAAACGACGAAATGCCCCG
 CT
 GATCTGCCTTCACTGGCCGCTGACTTCGTGGAGAGCAAAGATGTCTGTAAGAATTACGC
 A
 GAAGCCAAGGATGTGTTCCCTGGGCATGTTTCTGTACGAGTATGCAAGGCGACACCCAG
 AC
 TACTCCGTGGTCCTGCTGCTGAGGCTGGCTAAAACCTATGAGACCACACTGGAAAAGTG
 C
 TGTGCAGCCGCTGATCCTCATGAGTGCTATGCCAAAGTGTTTCGACGAGTTCAAGCCTCT
 G
 GTCGAGGAACACAGAACCTGATCAAGCAGAATTGTGAGCTGTTTGAACAGCTGGGGG
 AG
 TACAAGTTTCAGAACGCCCTGCTGGTGCGCTATACAAAGAAAGTGCCCCAGGTCTCCAC
 T
 CCTACCCTGGTGGAGGTCTCTCGGAATCTGGGCAAAGTGGGGAGTAAATGCTGTAAGC
 AC
 CCAGAGGCTAAGAGAATGCCCTGCGCAGAAGATTACCTGAGTGTGGTCCTGAACCAGC
 TG
 TGTGTGCTGCATGAGAAAACACCTGTGTCAGACCGGGTCACTAAGTGCTGTACCGAATC
 A
 CTGGTGAACCGACGGCCTTGCTTCAGCGCCCTGGAG**GTG**GATGAAACTTATGTCCCAA
 AG

GAGTTTAATGCAGAAACATTCACCTTTTCACGCCGACATCTGTACCCTGTCTGAGAAGGA
A
AGACAGATTAAGAAACAGACAGCCCTGGTGGAGCTGGTCAAGCATAAACCAAAGGCTA
CT
AAAGAACAGCTGAAGGCAGTGATGGACGATTTTCGCAGCCTTTGTCGAGAAATGCTGTA
AG
GCCGACGATAAGGAAACCTGCTTCGCTGAGGAAGGAAAGAAACTGGTGGCTGCAAGTC
AG
GCCGCTCTGGGCCTGTGA

113. SEQ ID NO: 131 (CD19_scFv_BiTE AA)

DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIP
PRFSGSGSGTDFTLNHPVEKVDAAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIKGGGGSGGGSGGG
GSQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPQGGLWIGQIWPBGDGD
TNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQ
5 GTTVTVSS

114. SEQ ID NO: 132 (CD3_scFv_VH-VL_BiTE AA)

DIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQGGLWIGYINPSRGYTNY
NQKFKDKATLTDDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSV
EGGSGSGSGSGSGGVDDIQLTQSPAISASPGKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSP
KRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSEDAEDAAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLE
10 LK

115. SEQ ID NO: 133 (V1094 NT)

GAATTCGCGACCATGGCCGTGATGGCACCTAGAACACTGGTCCTGCTGCTGAGCGGGG
CA
CTGGCACTGACACAGACTTGGGCTGGAGACATTAAGCTGCAGCAGAGCGGAGCTGAGC
TG
GCACGACCAGGAGCAAGTGTGAAAATGTCATGCAAGACAAGCGGCTATACTTTTACCA
GG
TACACTATGCACTGGGTGAAGCAGCGACCAGGACAGGGACTGGAGTGGATCGGGTACA
TT
AACCCCTTCCAGAGGATATACCAACTACAATCAGAAGTTCAAAGATAAGGCCACCCTGA
CC
ACAGACAAGAGCTCCTCTACAGCCTATATGCAGCTGAGTTCACTGACTTCCGAGGATTC
T
GCCGTGTACTATTGCGCTAGGTACTATGACGATCATTATTGTCTGGACTACTGGGGGCA

15

G
 GGAACCTACCCTGACAGTGAGCTCCGTCGAGGGAGGGAGTGGAGGCTCAGGAGGAAGC
 GGA
 GGGTCCGGAGGAGTGGACGATATCCAGCTGACTCAGTCTCCTGCAATTATGTCAGCCAG
 C
 CCAGGCGAGAAGGTCACAATGACTTGCCGCGCCTCTAGTTCAGTGTCTATATGAATTG
 G
 TACCAGCAGAAATCTGGCACCAGTCCCAAGAGATGGATCTATGATACATCCAAGGTCG
 CC
 TCTGGGGTGCCTTACAGGTTTTCCGGCTCTGGGAGTGGAACCTTCATATAGCCTGACCAT
 T
 AGCTCCATGGAGGCTGAAGACGCCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTGGTCTAGTAACCC
 C
 CTGACATTCGGCGCCGGGACTAAACTGGAGCTGAAGGGGGGATCTGACGCACACAAAA
 GT
 GAAGTCGCCCATCGGTTCAAGGATCTGGGCGAGGAAAATTTAAAGCCCTGGTGCTGA
 TC
 GCCTTCGCTCAGTACCTGCAGCAGTGCCCTTTTGAGGACCACGTGAAGCTGGTCAACGA
 G
 GTGACCGAGTTCGCTAAAACATGCGTGGCTGATGAGTCTGCAGAAAATTGTGACAAGA
 GT
 CTGCATACACTGTTTGGGGATAAACTGTGTACCGTGGCCCACTGCGCGAGACTTACGG
 A
 GAAATGGCCGACTGCTGTGCTAAGCAGGAGCCTGAACGAAACGAGTGCTTCCTGCAGC
 AC
 AAAGACGATAACCCTAATCTGCCACGCCTGGTGCGACCAGAAGTGGATGTCATGTGTA
 CT
 GCTTTCCACGACAATGAGGAAACCTTTCTGAAGAAATATCTGTACGAGATCGCCCCGA
 GA
 CATCCATATTTTTACGCACCCGAACTGCTGTTCTTTGCCAAAAGATACAAGGCAGCCTT
 C
 ACCGAGTGCTGTCAGGCTGCAGATAAAGCCGCTTGCCTGCTGCCTAAGCTGGATGAGCT
 G
 CGAGACGAAGGAAAGGCCTCAAGCGCTAAACAGCGGCTGAAGTGTGCTAGCCTGCAGA
 AA
 TTCGGAGAGCGAGCCTTCAAGGCATGGGCAGTGGCTCGGCTGTCTCAGAGATTCCCAA
 AG
 GCAGAGTTTGCCGAAGTCAGCAAACTGGTGACTGACCTGACCAAGGTGCACACCGAGT
 GC
 TGTCATGGCGATCTGCTGGAATGCGCCGACGATAGAGCTGACCTGGCAAAGTACATCT
 GT
 GAGAACCAGGATAGCATTTCTCTAAACTGAAGGAGTGCTGTGAAAAACCTCTGCTGG
 AG
 AAGTCCCCTGTCATCGCCGAGGTGGAAAACGATGAAATGCCCGCTGACCTGCCTTCACT
 G
 GCAGCCGATTTCTGTCGAGAGCAAAGACGTGTGTAAGAATTACGCAGAAGCCAAGGATG

TG
 TTCCTGGGCATGTTTCTGTATGAGTACGCTAGGCGACACCCAGACTACAGCGTGGTCCT
 G
 CTGCTGCGGCTGGCCAAGACATATGAGACAACTCTGGAAAAATGCTGTGCTGCAGCCG
 AC
 CCTCATGAGTGCTATGCCAAAGTCTTCGATGAGTTCAAGCCTCTGGTGGAGGAACCACA
 G
 AACCTGATTAAGCAGAATTGTGAGCTGTTTGAACAGCTGGGCGAGTATAAATTCCAGA
 AC
 GCCCTGCTGGTGAGATACACCAAGAAAGTCCCCAGGTGTCCACCCCTACACTGGTGG
 AA
 GTCTCTCGGAATCTGGGAAAGGTCGGCAGTAAATGCTGTAAGCACCCAGAGGCTAAAA
 GA
 ATGCCCTGCGCAGAAGATTACCTGTCCGTGGTCCTGAACCAGCTGTGTGTGCTGCATGA
 G
 AAGACACCAGTCTCTGACAGGGTGACCAAATGCTGTACAGAATCCCTGGTGAACCGAC
 GG
 CCTTGCTTTTCTGCCCTGGAGGTGCGATGAAACCTATGTGCCAAAGGAGTTCAATGCTGA
 A
 ACTTTACCTTTACGCAGACATCTGTACTCTGAGCGAGAAAGAACGCCAGATTAAGAA
 A
 CAGACCGCCCTGGTCGAGCTGGTGAAACATAAGCCCAAAGCCACAAAAGAACAGCTGA
 AG
 GCTGTCATGGACGATTTTCGCTGCATTTGTGGAGAAATGCTGTAAGGCAGACGATAAGG
 AA
 ACCTGCTTCGCCGAGGAAGGCAAGAACTGGTGGCCGCTAGCCAGGCAGCACTGGGAC
 TG
 GGAGGGTCCGGGGATATCCAGCTGACCCAGTCACCAGCCAGCCTGGCTGTCTCACTGG
 GG
 CAGAGGGCCACAATTAGTTGTAAGGCTTCCCAGTCTGTGGACTACGATGGAGACTCCTA
 T
 CTGAACTGGTACCAGCAGATCCCAGGACAGCCACCTAAACTGCTGATCTACGACGCCA
 GT
 AATCTGGTGTGAGGCATCCCACCCCGCTTTAGTGGATCAGGCAGCGGGACAGACTTCAC
 T
 CTGAACATTACCCAGTCGAGAAGGTGGATGCTGCAACCTACCATTGCCAGCAGAGCA
 CT
 GAGGACCCCTGGACCTTTGGAGGCGGGACAAAACCTGGAAATCAAGGGAGGCGGGGGA
 TCA
 GGCGGAGGAGGCAGCGGAGGAGGAGGGTCCCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCCGGAGCA
 GAG
 CTGGTCAGGCCAGGGAGTTCAGTGAAAATTAGCTGTAAGGCATCCGGGTATGCCTTCA
 GC
 TCCTACTGGATGAATTGGGTCAAACAGAGACCTGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGAC
 AG
 ATTTGGCCCGGGGATGGAGACACTAACTACAATGGGAAGTTTAAAGGAAAGGCTACAC

TG
 ACTGCAGATGAATCTAGTTCAACCGCCTACATGCAGCTGAGCTCCCTGGCATCCGAGGA
 C
 TCTGCCGTCTATTTCTGCGCTAGAAGGGAAACCACAACCTGTGGGCAGGTACTATTACGC
 C
 ATGGACTATTGGGGCCAGGGGACCACAGTGACCGTCTCTAGTTGAGGATCC

116. SEQ ID NO: 134 (V1094 AA)

EFATMAVMAPRTLVLALLSGALALTQTWAGDIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTR
 YTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTDDKSSSTAYMQLSSLTSEDS
 AVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGSGGSGGSGGVDDIQLTQSPAIMSAS
 PGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVYPYRFSGSGSGTSYSLTIS
 SMEAEDAATYYCQWSSNPLTFGAGTKLELKGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIA
 FAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE
 MADCCAKQEPERNECFQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRH
 PYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRLDEGKASSAKQRLKCSLQKF
 GERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTQVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICE
 NQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL
 GMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLI
 KQNCLEFELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKKHPEAKRMPC
 AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTF
 HADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFA
 EEGKKLVAAASQAALGLGGSGDIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVQDYGDSYLNWY
 QQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEKVDAATYHCQSTEDPWTFG
 GGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNW
 VKQRPQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFC
 ARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSS*GS

5

117. SEQ ID NO: 135 (V1095)

GAATTCGCGACCATGGCCGTGATGGCACCTAGAACACTGGTCCTGCTGCTGAGCGGGG
 CA
 CTGGCACTGACACAGACTTGGGCTGGAGACATTCAGCTGACACAGTCCCCAGCTTCTCT
 G
 GCAGTCTCACTGGGCCAGCGGGCAACTATCAGCTGCAAGGCCTCACAGAGCGTGGACT
 AC
 GATGGAGACAGCTATCTGAACTGGTACCAGCAGATCCCAGGACAGCCACCTAACTGC
 TG
 ATCTACGACGCCAGTAATCTGGTGTGAGGCATCCCACCCAGATTTTCCGGATCTGGCAG
 T
 GGGACCGACTTCACACTGAACATTCACCCAGTGGAGAAGGTCGATGCCGCTACCTACC
 AT
 TGCCAGCAGAGCACTGAGGACCCCTGGACCTTTGGCGGGGGAACAAAACCTGGAAATCA
 AG
 GGCGGAGGAGGCTCTGGAGGAGGAGGGAGTGGAGGAGGAGGATCACAGGTGCAGCTG

10

CAG
 CAGTCCGGAGCAGAGCTGGTCAGGCCAGGCAGCTCCGTGAAAATTAGCTGTAAGGCAT
 CC
 GGGTATGCCTTCTCTAGTTACTGGATGAATTGGGTGAAGCAGCGACCAGGACAGGGAC
 TG
 GAGTGGATCGGACAGATTTGGCCTGGGGATGGAGACACTAACTACAATGGGAAGTTTA
 AA
 GGAAAGGCTACTCTGACCGCAGATGAATCAAGCTCCACCGCCTACATGCAGCTGTCTA
 GT
 CTGGCCAGTGAGGACTCAGCTGTCTATTTCTGCGCACGGAGAGAAACCACAACTGTGG
 GC
 CGATACTATTACGCCATGGATTACTGGGGCCAGGGGACCACAGTGACCGTCTCAAGCG
 GC
 GGGAGCGATGCTCACAAATCCGAGGTCGCACATAGATTCAAGGACCTGGGGGAGGAAA
 AC
 TTAAAGCCCTGGTGCTGATCGCCTTCGCTCAGTATCTGCAGCAGTGCCCCTTTGAAGA
 C
 CACGTGAAGCTGGTCAACGAAGTGACTGAGTTCGCTAAAACCTGCGTGGCCGATGAGT
 CT
 GCTGAAAATTGTGACAAGAGTCTGCATACCCTGTTTGGGGATAAACTGTGTACTGTGGC
 C
 ACCCTGCGCGAGACATACGGAGAAATGGCAGACTGCTGTGCCAAGCAGGAGCCTGAAC
 GA
 AACGAGTGCTTCCTGCAGCACAAAGACGATAACCCTAATCTGCCACGCCTGGTGCGAC
 CA
 GAAGTGGATGTCATGTGTACTGCTTCCACGACAATGAGGAAACCTTTCTGAAGAAATA
 T
 CTGTACGAGATTGCCAGGCGCCATCCATATTTTTACGCACCCGAACTGCTGTTCTTTGCC
 AAAAGGTACAAGGCAGCCTTCACCGAGTGCTGTCAGGCTGCAGATAAAGCCGCTTGCC
 TG
 CTGCCTAAGCTGGATGAGCTGCGAGACGAAGGAAAGGCCTCCTCTGCTAAACAGCGGC
 TG
 AAGTGTGCTAGCCTGCAGAAATTCGGCGAGAGGGCCTTCAAGGCATGGGCAGTGGCTC
 GA
 CTGTCTCAGAGATTCCCAAAGGCAGAGTTTGCCGAAGTCAGCAAACCTGGTGACAGACC
 TG
 ACTAAGGTGCACACCGAGTGCTGTCATGGCGATCTGCTGGAATGCGCCGACGATCGCG
 CT
 GACCTGGCAAAGTACATCTGTGAGAACCAGGATAGCATTAGTTCAAAACTGAAGGAGT
 GC
 TGTGAAAAACCTCTGCTGGAGAAGTCCCACTGCATCGCCGAGGTGGAAAACGATGAAA
 TG
 CCAGCTGACCTGCCTTCCCTGGCAGCAGATTTTCGTGAGTCTAAAGACGTGTGTAAGAA
 T
 TACGCAGAAGCCAAGGATGTGTTCCCTGGGCATGTTTCTGTATGAGTACGCTCGACGGCA
 C

CCCGACTACTCCGTGGTCCTGCTGCTGAGGCTGGCCAAGACATATGAGACTACCCTGGA
 A
 AAATGCTGTGCTGCAGCCGACCCTCATGAGTGCTATGCCAAAGTCTTCGATGAGTTCAA
 G
 CCTCTGGTGGAGGAACACAGAACCTGATTAAGCAGAATTGTGAGCTGTTTGAACAGC
 TG
 GGCGAGTATAAATTCCAGAACGCCCTGCTGGTGGCTACACCAAGAAAGTCCCCCAGG
 TG
 AGTACACCTACTCTGGTGGAAGTCTCACGGAATCTGGGAAAGGTCGGCAGTAAATGCT
 GT
 AAGCACCCAGAGGCCAAAAGAATGCCCTGCGCTGAAGATTACCTGTCCGTGGTCCTGA
 AC
 CAGCTGTGTGTGCTGCATGAGAAGACACCCGTCTCTGACCGGGTGACCAAATGCTGTAC
 A
 GAAAGCCTGGTGAACAGAAGGCCTTGCTTTTCCGCCCTGGAGGTCGATGAAACCTATGT
 G
 CCAAAGGAGTTCAATGCTGAAACCTTCACATTTACGCAGACATCTGTACTCTGAGCGA
 G
 AAAGAAAGACAGATTAAGAAACAGACCGCCCTGGTCGAGCTGGTGAAACATAAGCCC
 AAA
 GCCACAAAAGAACAGCTGAAGGCTGTCATGGACGATTTTCGCTGCATTTGTGGAGAAAT
 GC
 TGTAAGGCAGACGATAAGGAAACTTGCTTCGCCGAGGAAGGCAAGAAACTGGTGGCAG
 CT
 TCCCAGGCAGCACTGGGACTGGGAGGCTCCGGGGACATCAAGCTGCAGCAGTCTGGAG
 CA
 GAGCTGGCTAGGCCTGGAGCCTCTGTGAAAATGAGTTGTAAGACATCAGGCTATACTTT
 T
 ACCAGGTACACTATGCACTGGGTCAAACAGAGACCTGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCG
 GC
 TACATTAATCCCAGCCGCGGGTATACCAACTACAATCAGAAGTTCAAAGATAAGGCAA
 CC
 CTGACAACCTGACAAGAGCTCCTCTACAGCCTATATGCAGCTGAGTTCACTGACTAGCGA
 G
 GATTCCGCCGTGTATTACTGCGCTCGGTATTACGACGATCATTATTGTCTGGACTACTGG
 GGGCAGGGAACCACACTGACAGTCAGTCCGTGGAGGGAGGATCTGGAGGGAGTGGA
 GGC
 TCAGGAGGAAGCGGAGGGGTGGACGATATCCAGCTGACCCAGTCTCCTGCTATTATGT
 CA
 GCAAGCCCAGGCGAGAAGGTCACAATGACTTGCAAGAGCCTCTAGTTCACTGTCTATAT
 G
 AATTGGTATCAGCAGAAATCCGGCACCTCTCCAAGAGATGGATCTATGATACAAGCA
 AG
 GTCGCCTCCGGGGTGCCTTACAGGTTTTCCGGCTCTGGGAGTGGAACATCATATAGCCT
 G
 ACTATTAGCTCCATGGAGGCTGAAGACGCTGCAACCTATTACTGCCAGCAGTGGTCTAG

5 T
 AATCCCCTGACCTTCGGCGCCGGGACAAAACCTGGAGCTGAAGTGAGGATCC

118. SEQ ID NO: 136 (V1095 AA)

EFATMAVMAPRTLVL LLSGALALTQTWAGDIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYD
GDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEKVDAATYHCQQ
STEDPWTFGGGKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAF
SSYWMNWVKQRPQGQLEWIGQIWPQGDGDTNNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLAS
EDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTITVTVSSGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFK
ALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLR
ETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE
IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFECCQAADKAAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CAS
LQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAK
YICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKD
VFLGMFLY EYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEP
QNLIKQNC ELFELGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKR
MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET
FTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKET
CFAEEGKKLV AASQAALGLGGSGDIKLQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHW
VKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLT TDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCA
RYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGSGSGSGSGSGGVDDIQLTQSPAIMSASPGEKVT
MTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGV PYPYRFSGSGSGTSYSLTISMEAD
AATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELK*GS

119. SEQ ID NO: 137 (V1092, CD3, NT)

5 CL_#1072_antiCD3_1_HSA-1_337_DSS>

GAATTCGCGACCATGGCTGTGATGGCTCCTAGAACCTGGTGCTGCTGCTGTCCGGCGC
T
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGGGATATCAA ACTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCT
G
GCACGACCAGGAGCCAGTGTCAAAATGTCATGCAAGACTAGCGGCTACACCTTCACCA
GA
TATACCATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCAGGACAGGGACTGGAATGGATCGGATATA
TT
AACCCCAGCCGCGGCTACACAACTATAATCAGAAGTTCAAAGACAAGGCTACACTGA
CC
ACAGATAAGAGCTCCTCTACTGCATACATGCAGCTGAGTTCACTGACCAGCGAGGATTC
C
GCCGTGTACTATTGCGCTAGGTACTATGACGATCATTACTGTCTGGACTATTGGGGACA
G
GGCACTACCCTGACTGTGAGCTCCGT CGAAGGAGGGTCTGGAGGCAGTGGAGGATCAG
GA

GGGAGCGGAGGAGTGGACGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCCGCCATTATGAGTGCTT
 CA
 CCTGGCGAGAAGGTCACCATGACATGCCGCGCCTCTAGTTCAGTGTCTACATGAATTG
 G
 TATCAGCAGAAATCCGGCACATCTCCTAAGCGGTGGATCTACGATACTTCCAAAGTCGC
 C
 TCTGGGGTGCCATATCGGTTTCAGCGGGTCCGGATCTGGCACCAGTTACTCACTGACAAT
 T
 AGCTCCATGGAGGCTGAAGACGCCGCTACCTACTATTGTGTCAGCAGTGGTCTAGTAACCC
 T
 CTGACTTTCGGGGCCGGAACCAAACCTGGAGCTGAAGGGGGGAAGTGATGCACACAAAT
 CA
 GAAGTCGCCCATAGGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAATTTTAAAGCCCTGGTGCTGA
 TC
 GCTTTTCGCACAGTATCTGCAGCAGTGCCCATTTGAGGATCACGTGAAGCTGGTCAACGA
 G
 GTGACAGAGTTCGCCAAAACCTGCGTCGCAGACGAGAGCGCCGAAAATTGTGATAAGT
 CC
 CTGCATACCCTGTTTGGGGATAAACTGTGTACTGTGGCCACCCTGAGGGAGACATACGG
 A
 GAAATGGCTGACTGCTGTGCAAAGCAGGAGCCCGAACGCAACGAGTGCTTCCTGCAGC
 AC
 AAAGACGATAACCCCAATCTGCCTAGGCTGGTGCGCCCTGAAGTGGACGTCATGTGTA
 CC
 GCTTTCCACGATAATGAGGAAACATTTCTGAAGAAATACCTGTATGAGATTGCCCGGAG
 A
 CATCCTTACTTTTATGCTCCAGAACTGCTGTTCTTTGCAAAACGGTACAAGGCAGCCTTC
 ACAGAGTGCTGTCAGGCTGCAGATAAAGCCGCTTGCCTGCTGCCAAAGCTGGACGAGC
 TG
 CGCGATGAAGGAAAGGCCTCAAGCGCTAAACAGCGACTGAAGTGTGCCTCCCTGCAGA
 AA
 TTCGGCGAGCGGGCTTTTAAGGCATGGGCTGTGGCACGACTGAGCCAG**CGG**TTCCCCA
 AG
 GCAGAGTTTGCCGAAGTCTCCAAACTGGTGACAGACCTGACTAAGGTGCACACCGAGT
 GC
 TGTCATGGGGACCTGCTGGAATGCGCCGACGATAGAGCTGATCTGGCAAAGTATATCT
 GT
 GAGAACCAGGACTCTATTTCTCTAACTGAAGGAGTGCTGTGAAAAACCTCTGCTGGA
 G
 AAGAGCCACTGCATCGCAGAGGTGGAAAACGACGAAATGCCAGCCGATCTGCCCTCTC
 TG
 GCAGCCGACTTCGTGAGAGTAAAGATGTGTGTAAGAATTACGCCGAAGCTAAGGACG
 TG
 TTCCTGGGCATGTTTCTGTACGAGTATGCAAGAGCCTGAGGATCC

120. SEQ ID NO: 138 (V1092 AA)

EFATMAVMAPRTLVLSSGALALTQTWAGDIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTR
YTMHWVKQRPQGGLWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTDDKSSSTAYMQLSSLTSEDS
AVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGSGGSGGSGGVDDIQLTQSPAIMSAS
PGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPPYRFSGSGSGTSYSLTIS
SMEAEDAATYYCQWSSNPLTFGAGTKLELKGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIA
FAQYLQQCPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE
MADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRH
PYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRLKCASLQKF
GERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICE
NQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL
GMFLYEYARA*GS

121. SEQ ID NO: 139 (CL_#1079_HSA-342_585_DSS_antiCD19_2 nt)

GAATTCGCGACCATGGCCGTGATGGCTCCCCGAACACTGGTGCTGCTGCTGTCCGGCGC
T
CTGGCTCTGACTCAGACTTGGGCTGGCTCCGTGGTGCTGCTGCTGCGGCTGGCCAAGAC
C
TATGAGACCACACTGGAAAAATGCTGTGCCGCTGCAGATCCACACGAGTGCTACGCTA
AG
GTGTTGACGAGTTCAAGCCTCTGGTCGAGGAACACAGAACCTGATCAAGCAGAATT
GT
GAGCTGTTGAAACAGCTGGGCGAGTATAAATTTGAGAACGCCCTGCTGGTGAGATACA
CA
AAGAAAGTGCCCCAGGTCTCTACACCTACTCTGGTGGAAGTCAGTCGAAATCTGGGAA
AG
GTCGGCTCAAAGTGCTGTAAACACCCAGAGGCAAAACGGATGCCCTGCGCCGAAGACT
AT
CTGAGCGTGGTCTCTGAACCAGCTGTGTGTGCTGCATGAGAAGACACCCGTGTCCGATAG
G
GTCACCAAATGCTGTACAGAATCTCTGGTGAACCGGAGACCCTGCTTCAGTGCCCTGGA
G
GTGGACGAAACTTACGTCCCTAAGGAGTTTAATGCCGAAACCTTCACATTTACGCTGA
T
ATCTGTACTCTGTCCGAGAAAGAACGCCAGATTAAGAAACAGACCGCCCTGGTGAGC
TG
GTCAAGCATAAACCTAAGGCAACTAAGGAACAGCTGAAAGCCGTGATGGACGATTTTCG
CC
GCTTTTGTGAGAAAGTGCTGTAAAGCTGACGATAAGGAAACCTGCTTCGAGAGGAAG
GC
AAGAAACTGGTGGCAGCCTCTCAGGCTGCACTGGGACTGGGAGGGAGCGGGGACATCC
AG
CTGACACAGTCCCCTGCATCTCTGGCCGTGAGCCTGGGACAGCGAGCTACTATTTCTGT
T
AAGGCATCCCAGTCTGTGGACTATGATGGGGACAGCTATCTGAACTGGTACCAGCAGA

5

TC
 CCAGGACAGCCCCCTAAGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATCTGGTGTCCGGCATCCC
 A
 CCCCATTTCAGTGGATCAGGCAGCGGGACAGATTTTACTCTGAACATTCACCCAGTGGGA
 G
 AAGGTCGACGCCGCTACCTACCATTGCCAGCAGTCTACTGAGGACCCCTGGACCTTCGG
 A
 GGCGGGACAAAGCTGGAAATCAAAGGAGGCGGGGGATCAGGCGGAGGAGGCAGCGGA
 GGA
 GGAGGGTCCCAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAGCTGGTGAGACCTGGCAGCT
 CC
 GTCAAGATTTCTTGTAAGCTAGTGGCTATGCATTTTCTAGTTACTGGATGAATTGGGT
 G
 AAGCAGAGGCCTGGACAGGGACTGGAGTGGATCGGACAGATTTGGCCAGGGGATGGA
 GAC
 ACCAACTATAATGGGAAATTCAAGGGAAAAGCCACTCTGACCGCTGACGAGTCAAGCT
 CC
 ACAGCCTATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCAAGTGAGGATTCAGCCGTGTACTTTTGCGC
 T
 AGGCGCGAAACTACCACAGTCGGCAGGTA**CT**ATTACGCTATGGACTACTGGGGCCAGG
 GG
 ACTACCGTGACCGTCTCAAGCTGAGGATCC

122. SEQ ID NO: 140 (CL_#1079_HSA-342_585_DSS_antiCD19_2 AA)

EFATMAVMAPRTLVLVLLSGALALTQTWAGSVVLLRLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAK
 VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKV
 GSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEV
 DETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAF
 VEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGSGDIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKAS
 QSVDDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNHPVEKVDAA
 TYHCQQSTEDPWTFGGGKLEIKGGGSGGGGSGGGGSQVQLQSGAELVRPGSSVKISC
 KASGYAFSSYWMNWK**Q**RPQGQLEWIGQIWPGDGTNYNGKFKGKATLTADSSSTAY
 MQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTITVTVSS*GS

5

123. SEQ ID NO: 141 (CL_#1075_HSA-342_585_DSS_antiCD3_2)

GAATTCGCGACCATGGCTGTGATGGCTCCTAGAACACTGGTGCTGCTGCTGTCCGGGGC
 T
 CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGAAGCGTGGTGCTGCTGCTGCTGCGGCTGGCAAAGA
 CA
 TATGAGACCACACTGGAAAAATGCTGTGCCGCTGCAGACCCTCACGAGTGCTACGCCA
 AG
 GTGTTTCGATGAGTTCAAGCCCCTGGTCGAGGAACCTCAGAACCTGATCAAGCAGAATT
 GT

10

GAGCTGTTCTGAACAGCTGGGCGAGTACAAATTTTCAGAACGCCCTGCTGGTGAGATATA
 CC
 AAGAAAGTGCCACAGGTCTCAACCCCCACACTGGTGGAAGTCAGCAGAAATCTGGGCA
 AG
 GTCGGGTCCAAGTGCTGTAAACACCCTGAGGCCAAAAAGGATGCCATGCGCCGAAGACT
 AC
 CTGTCCGTGGTCCTGAACCAGCTGTGTGTGCTGCATGAGAAGACACCAGTGTCTGATAG
 G
 GTCACTAAATGCTGTACCGAAAGCCTGGTGAACCGGAGACCTTGCTTCAGCGCCCTGGA
 G
 GTGGACGAAACCTACGTCCCAAAGGAGTTTAATGCTGAAACTTTACCTTTACGCAGA
 T
 ATCTGTACCCTGTCCGAGAAAGAACGCCAGATTAAGAAACAGACAGCCCTGGTGGAGC
 TG
 GTCAAGCATAAACCAAAGGCCACTAAGGAACAGCTGAAAGCTGTGATGGACGATTTTCG
 CC
 GCTTTTGTGAGAAAGTGCTGTAAAGCAGACGATAAGGAAACCTGCTTCGCCGAGGAAG
 GG
 AAGAACTGGTGGCAGCATCTCAGGCTGCACTGGGACTGGGAGGGTCTGGCGACATTA
 AG
 CTGCAGCAGAGTGGAGCAGAGCTGGCACGACCAGGAGCATCAGTGAAGATGAGCTGTA
 AA
 ACTTCCGGCTACACATTCAGTATACCATGCACTGGGTGAAGCAGCGACCAGGAC
 AG
 GGAAGTGGAGTGGATCGGCTATATTAATCCCAGCCGAGGGTACACCAACTATAATCAGA
 AG
 TTCAAGGACAAAGCTACACTGACTACCGATAAGAGCTCCTCTACTGCATACATGCAGCT
 G
 AGTTCACTGACCTCCGAGGACTCTGCCGTGTACTATTGCGCTAGGTACTATGACGATCA
 T
 TACTGTCTGGATTATTGGGGACAGGGCACAACCTCTGACAGTGAGCTCCGTCTGAAGGAG
 GC
 AGTGGAGGATCAGGAGGGAGCGGAGGCTCCGGAGGAGTGGACGATATCCAGCTGACT
 CAG
 AGCCCCGCTATTATGTCAGCAAGCCCTGGCGAGAAGGTGACCATGACATGCCGGGCTT
 CT
 AGTTCAGTCAGCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAGTCTGGAACAAGTCCCAAACGAT
 GG
 ATCTACGACACT**TCT**AAGGTGGCCAGTGGCGTCCCTTATCGGTTCTCCGGGTCTGGAAG
 T
 GGCACATCATAACAGCCTGACTATTAGCTCCATGGAGGCCGAAGATGCCGCTACCTACTA
 T
 TGCCAGCAGTGGTCTAGTAATCCCCTGACCTTTGGGGCTGGAACAAAGCTGGAGCTGA
 AA
 TGAGGATCC

124. SEQ ID NO: 142 (CL_#1075_HSA-342_585_DSS_antiCD3_2 AA)

EFATMAVMAPRTLVL LLSGALALTQ TWAGSVV LLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK
VFDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELFQ LGEYKFQ NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKV
GSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEV
DETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAF
VEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGSGDIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTS
GYTFTRYTMHWVKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLT TDKSSSTAYMQLSS
LTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGSGGSGGSGGVDDIQLTQSP
AIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPPYRFSGSGSGT
SYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELK*GS

125. SEQ ID NO: 143 CL_#1076_antiCD19_1_HSA-1_337_DSS NT

GAATTCGCGACCATGGCCGTGATGGCACCTCGCACCCCTGGTCTGCTGCTGAGCGGGGC
A
CTGGCACTGACACAGACTTGGGCTGGAGATATTCAGCTGACTCAGAGCCCTGCTTCCCT
G
GCAGTCAGCCTGGGACAGCGAGCAACCATCTCCTGCAAGGCCAGCCAGTCCGTGGACT
AT
GATGGCGACTCCTATCTGAACTGGTACCAGCAGATCCCAGGGCAGCCCCCTAAACTGCT
G
ATCTACGATGCCTCAAATCTGGTGAGCGGCATCCCACCCAGATTTTCTGGAAGTGGCTC
A
GGGACAGACTTCACTCTGAACATTACCCCGTGGAGAAGGTCGATGCCGCTACCTACCA
T
TGCCAGCAGAGCACAGAGGACCCTTGGACTTTTGGCGGGGGAACCAAAGTGGAAATCA
AG
GGAGGAGGAGGCAGTGGCGGAGGAGGGTCAGGAGGAGGAGGAAGCCAGGTGCAGCTG
CAG
CAGAGCGGAGCAGAGCTGGTCAGGCCAGGAAGCTCCGTGAAAATTTCTGTAAGGCCT
CT
GGCTATGCTTTCTCTAGTTACTGGATGAATTGGGTGAAGCAGCGACCTGGACAGGGACT
G
GAGTGGATCGGGCAGATTTGGCCAGGGGATGGAGACACCAACTACAATGGAAAGTTTA
AA
GGCAAGGCAACTCTGACCGCCGATGAATCAAGCTCCACAGCCTATATGCAGCTGTCTA
GT
CTGGCATCTGAGGACAGTGCCGTCTACTTCTGCGCTCGGAGAGAAACCACAACTGTGG
GA
CGATACTATTACGCCATGGATTATTGGGGCCAGGGGACCACAGTGACCGTCTCAAGCG
GC
GGGTCCGATGCTCACAAATCTGAGGTGCGACATCGCTTCAAGGACCTGGGGGAGGAAA
AC
TTTAAAGCCCTGGTGCTGATCGCTTTCGCACAGTACCTGCAGCAGTGCCCCCTTTGAAGA
C

CACGTGAAGCTGGTCAACGAGGTGACAGAGTTCGCCAAAACCTTGCCTCGCTGATGAGA
GT
GCAGAAAATTGTGACAAGTCACTGCATACACTGTTTGGAGATAAACTGTGTACCGTGGC
C
ACACTGCGGGAGACTTATGGCGAAATGGCCGACTGCTGTGCTAAGCAGGAGCCAGAAA
GA
AACGAGTGCTTCCTGCAGCACAAAGACGATAACCCTAATCTGCCACGACTGGTGCGGC
CC
GAAGTGGATGTCATGTGTACCGCCTTCCACGACAATGAGGAAACATTTCTGAAGAAAT
AT
CTGTACGAGATTGCTAGGCGCCATCCATATTTTACGCCCCGAAGTGTGTTCTTTGCT
AAAAGGTACAAGGCAGCCTTCACTGAGTGCTGTCAGGCTGCAGATAAAGCCGCTTGCC
TG
CTGCCCCAAGCTGGATGAGCTGCGCGACGAAGGGAAGGCCTCCTCTGCTAAACAGCGAC
TG
AAGTGTGCATCTCTGCAGAAATTCGGAGAGAGGGCTTTTAAGGCCTGGGCTGTGGCAA
GA
CTGAGCCAGAGGTTCCCTAAGGCAGAGTTTGCCGAAGTCAGCAAACCTGGTGACTGACC
TG
ACCAAGGTGCACACAGAGTGCTGTCATGGCGATCTGCTGGAATGCGCCGACGATCGCG
CT
GACCTGGCAAAGTATATCTGTGAGAATCAGGATTCCATTAGTTCAAACTGAAGGAGT
GC
TGTGAAAAACCTCTGCTGGAGAAGTCTCACTGCATCGCCGAGGTGGAAAACGATGAAA
TG
CCCGCTGAC**CTGC**CTTCTCTGGCAGCCGATTTCGTCGAGAGTAAAGACGTGTGTAAGAA
T
TACGCCGAAGCTAAGGACGTGTTCTCTGGGCATGTTTCTGTATGAGTACGCAAGAGCCTG
A
GGATCC

126. SEQ ID NO: 144 (CL #1076_antiCD19_1_HSA-1_337_DSS AA)

EFATMAVMAPRTLVLVLLSGALALTQTWAGDIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYD
GDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEKVDAATYHCQQ
STEDPWTFFGGGKLEIKGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAF
SSYWMNWKQRPQGQLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLAS
EDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQTTVTVSSGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFK
ALVLIAFAQYLQCPFDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLR
ETYGEMADCCAQKQEPERNECFQHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE
IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFECCQAADKAACLLPKLDELRLDEGKASSAKQRLKAS
LQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTQVHTECCHGDLLECADDRADLAK
YICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAK**D**
VFLGMFLYFYARA*GS

5

127. SEQ ID NO: 145 (CL #1070_HER2_scFv_Fc_L351Y_F405A_Y407V NT)

GAATTCGCCACCATGGCCGTGATGGCACCTAGAACACTGGTCCTGCTGCTGAGCGGAGC
 C
 CTGGCACTGACACAGACTTGGGCCGGACAGGTCCAGCTGGTGCAGAGCGGGGCAGAGG
 TC
 AAGAAACCCGGAGAAAGTCTGAAGATCTCATGCAAAGGGAGTGGATACTCATTACCA
 GC
 TATTGGATTGCCTGGGTGAGGCAGATGCCTGGCAAGGGGCTGGAATACATGGGCCTGAT
 C
 TATCCAGGGGACAGCGATACAAAATACTCCCCCTCTTTCCAGGGCCAGGTCACAATTTC
 C
 GTGGACAAGAGTGTCTCAACTGCCTATCTGCAGTGGAGCTCCCTGAAACCTAGCGATTTC
 C
 GCAGTGTACTTTTGTGCCAGGCACGACGTCGGGTATTGCACAGATCGCACTTGTGCTAA
 G
 TGGCCAGAGTGGCTGGGAGTGTGGGGACAGGGAACCCCTGGTCACAGTGTCTAGTGGAG
 GA
 GGAGGCTCAAGCGGAGGAGGCTCTGGAGGAGGAGGGTCTCAGAGTGTGCTGACTCAGC
 CA
 CCTTCAGTCAGCGCAGCTCCTGGACAGAAGGTGACCATCTCCTGCTCTGGCAGCTCTAG
 T
 AACATTGGCAACAATTACGTGAGCTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACCGCCCCAAAGCT
 G
 CTGATCTACGACCACACAAATCGGCCCCGCTGGGGTGCCTGATAGATTCACTGGGTCAAA
 A
 AGCGGAACCTCCGCTTCTCTGGCAATTAGCGGCTTTCGCTCCGAGGACGAAGCTGATTA
 C
 TATTGTGCATCTTGGGACTACACACTGAGTGGCTGGGTGTTTCGGAGGCGGGACTAAGCT
 G
 ACCGTGCTGGGGGCAGCCGAACCAAAGTCAAGCGATAAACTCATACCTGCCCACCAT
 GT
 CCTGCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCTTCCGTGTTTCTGTTTCTCAAAGCCAAAAGA
 C
 ACCCTGATGATCAGCCGAACACCAGAAGTGACTTGCGTGGTCGTGGACGTCTCCCACGA
 G
 GACCCCGAAGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGA
 CC
 AAACCCCGAGAGGAACAGTACAACCTCAACTTATCGGGTCGTGAGCGTCCTGACCGTGCT
 G
 CACCAGGACTGGCTGAACGGGAAAGAGTATAAGTGCAAAGTGTCTAATAAGGCCCTGC
 CC
 GCTCCTATCGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAAGGCCAGCCAAGAGAACCCCAAGGTGT
 AC
 ACTTATCCCCCTTCTAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGT
 C
 AAAGGATTTTACCCCAAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGAAAA

C
AATTATAAGACCACACCACCCGTGCTGGACTCCGATGGATCTTTCGCTCTGGTGTCCAA
G
CTGACTGTGCGATAAATCTCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTAGTTGTTTCAGTCATGCA
T
GAGGCACTGCACAATCATTACACACAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAATGAG
GA
TCC

128. SEQ ID NO: 146 (CL #1070_HER2_scFv_Fc_L351Y_F405A_Y407V AA)

EFATMAVMAPRTLVLALLSGALALTQTWAGQVQLVQSGAEVKKPAGESLKISCKGSGYSFTS
YWIAWVRQMPGKGLEYMGLIYPGDSDTKYSPSFQGVVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSA
VYFCARHDVGYCTDRTCAKWPEWLGVWGQGLTVTVSSGGGGSSGGGSSGGGSSQSVLTQP
PSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSG
TSASLAISGFRSEDEADYYCASWDYTLSGWVFGGGTKLTVLGAAEPKSSDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTYPPS
RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKS
RWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*GS

129. SEQ ID NO: 147 (CL #1039)

GAATTCGCTACAATGGCCGTGATGGCACCCCGAACACTGGTCCTGCTGCTGAGCGGCGC
A
CTGGCACTGACACAGACTTGGGCTGGAGAACCTAAGAGCTCCGACAAAACCCACACAT
GC
CCCCCTTGTCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTTCCACCCAA
G
CCCAAAGATACACTGATGATCTCTCGAACTCCCGAGGTCACCTGCGTGGTCGTGGACGT
C
AGTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAAGTGCATA
AT
GCAAAGACTAAACCACGGGAGGAACAGTACAACCTAACATATAGAGTCGTGAGCGTCC
TG
ACTGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAAGTGAGCAATA
AG
GCCCTGCCTGCTCCAATCGAGAAAACCATTAGCAAGGCAAAAGGGCAGCCCAGGGAAC
CT
CAGGTGTACACCCTGCCTCCAAGCCGCGACGAGCTGACAAAGAACCAGGTCTCCCTGCT
G
TGCTCTGGTGAAAGGATTCTATCCTAGTGATATTGCCGTGGAGTGGGAATCAAATGGCCA
G
CCAGAGAACCAATTACATGACTTGGCCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGGAGTTTCTTTCTG
TATTCCAAGCTGACCGTGGACAAATCTAGATGGCAGCAGGGAAACGTCTTTTCTTGTAG
T
GTGATGCACGAAGCCCTGCACAATCATTACACACAGAAGTCACTGAGCCTGTCCCCTGG

C
AAATGAGGATCC

15 130. SEQ ID NO: 148 (CL #1039, AA)

EFATMAVMAPRTLVLALLSGALALTQTWAGEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYMTWPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK*GS

131. SEQ ID NO: 149 (CL_#719_scFv_FD5_Fc_IGG1_CH-A_L351Y_S400E_F405A_Y407V, NT>

GAATTCGCCACCATGGCCGTGATGGCTCCTAGAACCCTGGTGCTGCTGTCTGGAGC
T
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCT
G
TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGACGTAAACAC
C
GCTGTAGCTTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATTCTGC
A
TCCTTTTTGTACAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAAGTGGCAGTCGATCTGGGACAGATTTC
ACTCTACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTCAACTTACTACTGTCAACAGCA
T
TACACTACCCACCCACTTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAAGGTGGTTCTGG
T
GGTGGTTCTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTTCTGGTGAAGTGCAGCT
G
GTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC
C
TCTGGATTCAACATTAAAGATACTTATATCCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGG
C
CTGGAGTGGGTCGCACGTATTTATCCACAAATGGTTACACACGGTATGCGGACTCTGT
G
AAGGGCCGATTACCATCTCCGCAGACACTTCCAAGAACACCGCGTATCTGCAAATGAA
C
AGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTTTATTACTGTTCAAGATGGGGCGGAGACGGTTT
C
TACGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGGACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCGCCGAGCC
C
AAGAGCAGCGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAG
GA
CCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGATTTCCAGGACTCCC
GAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCAACT
GG

TACGTGGATGGCGTGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACA
AC
TCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAA
G
GAGTATAAGTGCAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTC
T
AAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGGAGCCCCAGGTGTACACATACCCACCCAGCAGAGACG
AA
CTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACATGTCTGGTGAAAGGCTTCTATCCTAGTGATAT
T
GCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAATTACAAGACCACACCTCCAG
TG
CTGGACGAGGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATG
G
CAGCAGGGGAACGTGTTTAGTTGTTTCACTGATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACAC
T
CAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAATGAGGATCC

132. SEQ ID NO: 150 (CL_#719_scFv_FD5_Fc_IGG1_CH-A_L351Y_S400E_F405A_Y407V, AA)

EFATMAVMAPRTLVLALLSGALALTQTWAGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTA
VAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQHYTTP
PTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFI
KDTYIHWRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAE
DTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDEDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*GS

5

133. SEQ ID NO: 151 (CL_#720_scFv_FD5_Fc_IGG1_CH-B_T366I_N390R_K392M_T394W)

GAATTCGCCACCATGGCCGTGATGGCTCCTAGAACCCCTGGTGCTGCTGTCTGGAGC
T
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCT
G
TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGACGTTAACAC
C
GCTGTAGCTTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATTCTGC
A
TCCTTTTTGTACAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCACTGGCAGTCGATCTGGGACAGATTTC
ACTCTACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGCA
T
TACACTACCCACCCACTTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAAGGTGGTTCTGG
T
GGTGGTTCTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTTCTGGTGAAGTGCAGCT

10

G
GTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC
C
TCTGGATTCAACATTAAAGATACTTATATCCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGG
C
CTGGAGTGGGTTCGCACGTATTTATCCCACAAATGGTTACACACGGTATGCGGACTCTGT
G
AAGGGCCGATTACCATCTCCGCAGACACTTCCAAGAACACCGCGTATCTGCAAATGAA
C
AGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTTTATTACTGTTCAAGATGGGGCGGAGACGGTTT
C
TACGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGGACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCGCCGAGCC
C
AAGAGCAGCGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAAGTCTGGGAG
GA
CCTAGCGTGTTCTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGATTTCCAGGACTCCC
GAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCAACT
GG
TACGTGGATGGCGTGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACA
AC
TCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAA
G
GAGTATAAGTGCAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTC
T
AAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGGAGCCCCAGGTGTACACACTGCCACCCAGCAGAGACG
AA
CTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGATCTGTCTGGTGAAAGGCTTCTATCCTAGTGATAT
T
GCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAGATACATGACCTGGCCTCCAG
TG
CTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTATTCCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATG
G
CAGCAGGGGAACGTGTTTAGTTGTTTCAAGTATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACAC
T
CAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAATGAGGATCC

134. SEQ ID NO: 152 (CL_#720_scFv_FD5_Fc_IGG1_CH-B_T366I N390R K392MT394W, AA)

EFATMAVMAPRTLVL LLSGALALTQTWAGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTA
VAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTP
PTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNI
KDTYIHWVRQAPGKLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAE
DTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV

SLICLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENRYMTWPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*GS

135. SEQ ID NO: 153 (CL #719_scFv_FD5_Fc_IGG1_CH-A_L351Y_S400E_F405A_Y407V) -> ver arriba

CL_#716_Fc_IGG1_CH-B_T366I_N390R_K392M_T394W>

GAATTCGCCACCATGGCCGTGATGGCTCCTAGAACCCCTGGTGCTGCTGTCTGGAGC
T
CTGGCTCTGACTCAGACCTGGGCTGGAGAGCCCAAGAGCAGCGATAAGACCCACACCT
GC
CCTCCCTGTCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCTGTTTCCCCCTAAG
CCAAAAGACACTCTGATGATTTCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT
G
TCTCACGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAAGTGCATA
AT
GCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGC
TG
ACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAGTAATA
AG
GCCCTGCCTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCTAAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGGAGC
CC
CAGGTGTACACACTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGA
TC
TGTCTGGTGAAAGGCTTCTATCCTAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACA
G
CCAGAGAACAGATACATGACCTGGCCTCCAGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCT
G
TATTCCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTAGTTGTTC
A
GTGATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGG
C
AAATGAGGATCC

136. SEQ ID NO: 154 (CL_#719_scFv_FD5_Fc_IGG1_CH-A_L351Y_S400E_F405A_Y407V)

EFATMAVMAPRTLVLVLLSGALALTQTWAGEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLICLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENRYMTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPGK*GS

5

137. SEQ ID NO: 155 (CL_#1102_MM-111)

GAATTCGCGACCATGGCCGTGATGGCTCCTCGGACACTGGTGCTGCTGCTGAGTGGGGC
 T
 CTGGCTCTGACACAGACTTGGGCTGGACAGGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGAGGAGGAC
 TG
 GTGAAGCCAGGAGGGTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTAGTGGCTTCACCTTTAGCTC
 C
 TACTGGATGTCTTGGGTGAGGCAGGCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGGCAAACA
 TC
 AATCGCGACGGATCAGCCAGCTACTATGTGGATAGCGTCAAGGGCAGGTTTACAATTAG
 T
 CGCGACGATGCTAAAACTCACTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGCGGGCAGAGGATA
 CT
 GCCGTGTACTATTGCGCCAGAGACAGGGGAGTCGGCTATTTGATCTGTGGGGGAGAG
 GA
 ACTCTGGTGACCGTCTCTAGTGCTAGCACCGGAGGCGGGGGATCTGGCGGAGGAGGCA
 GT
 GGAGGAGGAGGGTCCCAGTCTGCTCTGACACAGCCAGCAAGTGTGTCAGGCAGCCCCG
 GG
 CAGTCAATCACTATTAGCTGTACTGGCACCTCAAGCGACGTGGGAGGCTACAACCTTTGT
 C
 AGCTGGTATCAGCAGCACCTTGAAAAAGCCCCAAAGCTGATGATCTACGACGTGAGCG
 AT
 CGACCTTCCGGCGTCTCTGATCGGTTCTCCGGGTCTAAGAGTGGAATACTGCCTCCCT
 G
 ATCATTTCTGGGCTGCAGGCTGACGATGAGGCAGACTACTATTGCTCCTCTTATGGAAG
 T
 TCAAGCACCCATGTGATCTTCGGGGGAGGCACAAAAGTGAAGTGTCTGGGCGCAGCCTC
 A
 GATGCTCACAAAAGCGAGGTGGCACATCGGTTCAAGGACCTGGGGGAGGAAAACCTTTA
 AA
 GCCCTGGTGCTGATTGCATTCGCCAGTACCTGCAGCAGAGCCCATTTGAGGACCACGT
 G
 AAGCTGGTCAACGAGGTGACCGAGTTCGCCAAAACATGCGTGGCCGACGAGTCCGCTG
 AA
 AATTGTGATAAGTCTCTGCATACTCTGTTTGGAGATAAACTGTGCACCGTGGCCACACT
 G
 CGAGAGACCTACGGCGAAATGGCAGACTGCTGTGCCAAGCAGGAGCCAGAAAGAAAC
 GAG
 TGCTTCCTGCAGCACAAAGACGATAACCCAAATCTGCCACGACTGGTGCGACCAGAAG
 TG
 GACGTCATGTGTACTGCTTTCCACGATAATGAGGAAACCTTTCTGAAGAAATACCTGTA
 T
 GAGATCGCCCGGAGACATCCCTACTTTTATGCACCTGAACTGCTGTTCTTTGCCAAAAG
 A
 TACAAGGCTGCATTCACCGAGTGCTGTCAGGCCGCTGATAAAGCAGCCTGCCTGCTGCC
 A
 AAGCTGGACGAGCTGCGAGATGAAGGCAAGGCCTCCTCTGCTAAACAGAGACTGAAGT

GT
 GCCAGCCTGCAGAAATTCGGCGAGAGGGCTTTTAAGGCTTGGGCAGTGGCACGACTGTC
 C
 CAGAGATTCCCTAAGGCAGAGTTTGCCGAAGTCTCTAAACTGGTGACTGACCTGACCAA
 G
 GTGCACACCGAGTGCTGTCATGGCGACCTGCTGGAATGCGCCGACGATCGCGCTGATCT
 G
 GCAAAGTACATCTGTGAGAACCAGGACAGCATTAGTTCAAAGCTGAAAGAGTGCTGTG
 AA
 AAACCCCTGCTGGAGAAGAGCCACTGCATCGCAGAGGTGGAAAACGACGAAATGCCCG
 CC
 GATCTGCCTAGTCTGGCTGCAGACTTCGTGGAGTCAAAAGATGTCTGTAAGAATTACGC
 T
 GAAGCAAAGGATGTGTTCTGGGCATGTTTCTGTACGAGTATGCTAGGCGCCACCCAGA
 C
 TACTCCGTGGTCCTGCTGCTGAGGCTGGCCAAGACCTATGAGACCACACTGGAAAAATG
 C
 TGTGCCGCTGCAGATCCCCATGAGTGCTATGCCAAAGTGTTTCGACGAGTTCAAGCCACT
 G
 GTCGAGGAACCCCAAGAACCTGATTAAGCAGAATTGTGAGCTGTTTGAACAGCTGGGCG
 AG
 TACAAATTCCAGAACGCCCTGCTGGTGCGCTATACAAAGAAAGTCCCTCAGGTGAGCAC
 A
 CCAACTCTGGTGGAAGTCTCCAGGAATCTGGGAAAGGTCTGGCTCTAAATGCTGTAAGCA
 C
 CCCGAGGCCAAACGCATGCCTTGCGCTGAAGATTACCTGTCCGTGGTCCTGAACCAGCT
 G
 TGTGTGCTGCATGAGAAGACCCAGTCTCTGACCGGGTGACAAAATGCTGTACTGAAAG
 T
 CTGGTGAATCGACGGCCCTGCTTTAGCGCCCTGGAGGTGGATGAAACATATGTCCCTAA
 G
 GAGTTCCAGGCTGAAACCTTCACATTTACGCAGACATCTGTACTCTGTCCGAGAAAGA
 A
 AGACAGATTAAGAAACAGACCGCCCTGGTCGAGCTGGTGAAGCATAAACCCAAGGCCA
 CA
 AAAGAACAGCTGAAGGCTGTGATGGACGATTTGCGCGCTTTTGTGAGAAATGCTGTAA
 G
 GCTGACGATAAGGAAACTTGCTTTGCAGAGGAAGGGAAGAACTGGTGGCAGCATCCC
 AG
 GCTGCACTGGGACTGGCAGCTGCACTGCAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAGGT
 G
 AAGAAACCTGGGGAAAGTCTGAAAATCTCCTGTAAGGGCAGTGGGTACTCATTACCA
 GC
 TATTGGATTGCCTGGGTGAGGCAGATGCCAGGAAAGGGCCTGGAGTACATGGGACTGA
 TC
 TATCCTGGCGACAGCGATACAAAATACTCACCAAGCTTTCAGGGCCAGGTCACAATTAG
 C

GTGGATAAGTCCGTCTCTACTGCCTATCTGCAGTGGAGCTCCCTGAAACCTAGTGA
 A
 GCCGTGTACTTCTGCGCTCGCCACGACGTCGGCTATTGCACAGATCGAACTTGTGCCAA
 G
 TGGCCAGAGTGGCTGGGAGTGTGGGGACAGGGAACCCTGGTGACAGTCTCTAGTGGGG
 GA
 GGCGGGTCAAGCGGAGGAGGGTCCGGAGGAGGAGGAAGCCAGTCCGTGCTGACCCAG
 CCC
 CCTTCTGTCAGTGCCGCTCCTGGCCAGAAGGTGACAATCTCATGCAGCGGGTCCTCTAG
 T
 AACATTGGAAACAATTACGTGAGCTGGTATCAGCAGCTGCCAGGGACCGCTCCCAAGC
 TG
 CTGATCTACGATCATACAAATAGACCTGCAGGAGTGCCAGACAGGTTTTCCGGCTCTAA
 A
 AGTGGGACCTCAGCCAGCCTGGCTATTAGCGGCTTCCGGTCCGAGGACGAAGCAGATT
 AC
 TATTGTGCCTCCTGGGACTATACACTGTCTGGCTGGGTGTTCCGGCGGGGGAAGTAAAGCT
 G
 ACCGTCCTGGGGTGAGGATCC

138. SEQ ID NO: 156 (CL_#1102_MM-111, AA)

EFATMAVMAPRTLVLALLSGALALTQTWAGQVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS
 YWMSWVRQAPGKGLEWVANINRDGSASYVDSVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAED
 TAVYYCARDRGVGYFDLWGRGTLVTSSASTGGGSGGGSGGGSGGSALTQPASVSGSP
 GQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWYQQHPGKAPKLMYDVSDRPSGVSDRFSGSKSGNTASLI
 SGLQADDEADYYCSSYGSSTHVIFGGGKVTVLGAASDAHKSEVAHRFKDLGEENFKAL
 VLIAFAQYLQQSPFEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRET
 YGEMADCCAKQEPERNECFQHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIA
 RRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFECCQAADKAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRLKCASLQ
 KFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTQVHTECCHGDLLECADDRADLAKYI
 CENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDV
 FLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQN
 LIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMP
 CAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFTF
 HADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDEKTCFA
 EEGKKLVAAASQAALGLAAALQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQM
 PGKGLEYMGLIYPGDSDTKYSPSFQGVTVISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSAVYFCARHDV
 GYCTDRTCAKWPEWLGWVGQTLVTSSGGGSGGGSGGGSGGSQSVLTQPPSVSAAPGQ
 KVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAISGF
 RSEDEADYYCASWDYTLSGWVFGGGTKLTVLG*GS

139. SEQ ID NO: 157 (V1088)

GAATTCGCGACCATGGCTGTGATGGCTCCTAGAACACTGGTGCTGCTGCTGTCCGGGGC
 T
 CTGGCTCTGACTCAGACTTGGGCTGGGCAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGAGGAGGAC

TG
 GTGAAGCCAGGAGGGTCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTTCAGGCTTCACCTTTAGCTC
 C
 TACTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCACCAGGGAAGGGACTGGAGTGGGTGGCCAACA
 TC
 AATCGAGACGGGAGCGCTTCCTACTATGTGGATAGCGTCAAGGGAAGGTTTACAATTAG
 T
 CGCGACGATGCCAAAACTCACTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGCGAGCTGAGGATA
 CT
 GCAGTCTACTATTGCGCTAGAGACAGGGGCGTGGGGTATTTTCGATCTGTGGGGAAGAG
 GC
 ACTCTGGTGACCGTCTCTAGTGCAAGCACCGGAGGAGGAGGATCAGGCGGAGGAGGCA
 GC
 GGAGGAGGCGGGTCTCAGAGTGCCCTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGGTCCCCAG
 GA
 CAGAGCATCACAATTCCTGTACTGGCACCTCAAGCGACGTCCGAGGCTACAACCTTTGT
 G
 AGCTGGTATCAGCAGCACCCAGGCAAAGCCCCAAGCTGATGATCTACGACGTCTCCG
 AT
 CGACCTAGCGGGGTGTCCGATCGGTTCTCTGGAAGTAAATCAGGCAATACCGCCTCTCT
 G
 ATCATTAGTGGGCTGCAGGCCGACGATGAGGCTGACTACTATTGCTCCTCTTATGGAAG
 T
 TCAAGCACACATGTGATCTTCGGGGGAGGCACAAAAGTGACTGTCCTGGGAGCAGCCT
 CC
 GATGCACACAAATCTGAGGTGGCCCATCGGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACTTTA
 AA
 GCCCTGGTGCTGATTGCCTTCGCTCAGTACCTGCAGCAGAGCCCCTTTGAGGACCACGT
 G
 AAGCTGGTCAACGAGGTGACCGAGTTCGCCAAAACATGCGTGGCAGACGAGTCCGCCG
 AA
 AATTGTGATAAGTCTCTGCATACTCTGTTTGGAGATAAACTGTGTACCGTGGCCACACT
 G
 CGGGAGACCTATGGCGAAATGGCTGACTGCTGTGCAAAGCAGGAGCCCCGAAAGAAACG
 AG
 TGCTTCCTGCAGCACAAAGACGATAACCCCAATCTGCCTCGCCTGGTGCGACCTGAAGT
 G
 GACGTCATGTGTACTGCCTTCCACGATAATGAGGAAACCTTTCTGAAGAAATACCTGTA
 T
 GAGATCGCTCGGAGACATCCCTACTTTTATGCCCTGAACTGCTGTTCTTTGCTAAAAGA
 TACAAGGCTGCATTCACCGAGTGCTGTGAGGCCGCTGATAAAGCAGCCTGCCTGCTGCC
 C
 AAGCTGGACGAGCTGAGAGATGAAGGGAAGGCTTCCTCTGCAAAACAGAGGCTGAAGT
 GT
 GCTAGCCTGCAGAAATTCGGCGAGAGGGCCTTCAAGGCATGGGCAGTGGCTCGACTGA
 GC
 CAGAGATTCCCTAAGGCCGAGTTTGCTGAAGTCTCCAACTGGTGACTGACCTGACCAA

G
GTGCACACAGAGTGCTGTCATGGCGACCTGCTGGAATGCGCCGACGATCGCGCAGATCT
G
GCCAAGTACATCTGTGAGAATCAGGACTCTATTAGTTCAAAGCTGAAAGAGTGCTGTGA
A
AAACCCCTGCTGGAGAAGAGCCACTGCATCGCCGAGGTGGAAAACGACGAAATGCCTG
CT
GATCTGCCAAGTCTGGCTGCAGACTTTGTCTGAGTCAAAGATGTGTGTGAAGAATTACGC
A
GAAGCCAAGGATGTGTTCTGGGCATGTTTCTGTACGAGTATGCAAGGCGCCACCCTGA
C
TACTCCGTGGTCTGCTGCTGAGGCTGGCTAAGACCTATGAGACCACACTGGAAAAATG
C
TGTGCCGCTGCAGATCCACATGAGTGCTATGCCAAAGTCTTCGACGAGTTCAAGCCACT
G
GTGGAGGAACCCCAAGAACCTGATTAAGCAGAATTGTGAGCTGTTTGAACAGCTGGGCG
AG
TACAAATTCCAGAACGCCCTGCTGGTGCGCTATACAAAGAAAGTCCCTCAGGTGAGCAC
A
CCAACCTCTGGTGGAAGTCTCCAGGAATCTGGGCAAGGTCGGGTCTAAATGCTGTAAGCA
C
CCCGAGGCTAAACGCATGCCTTGCAGCAGAAGATTACCTGTCTGTGGTCTGAACCAGCT
G
TGTGTGCTGCATGAGAAGACACCAGTCAGTGACCGGGTGACAAAATGCTGTACTGAAA
GT
CTGGTGAATCGACGGCCTTGCTTTTCAGCCCTGGAGGTCGATGAAACTTATGTGCCAAA
G
GAGTTCCAGGCAGAAACCTTCACATTTACGCCGACATCTGTACACTGTCCGAGAAAGA
A
AGACAGATTAAGAAACAGACTGCCCTGGTCGAGCTGGTGAAGCATAAACCCAAGGCTA
CT
AAAGAACAGCTGAAGGCAGTCATGGACGATTCGCCGCTTTTGTGGAGAAATGCTGTAA
G
GCAGACGATAAGGAAACCTGCTTCGCCGAGGAAGGCAAGAAACTGGTGGCAGCCTCTC
AG
GCTGCACTGGGGCTGTGAGGATCC

140. SEQ ID NO: 158 (V1088, AA)

EFATMAVMAPRTLVLVLLSGALALTQTWAGQVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS
YWMSWVRQAPGKGLEWVANINRDGSASYVDSVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAED
TAVYYCARDRGVGYFDLWGRGTLVTSSASTGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSP
GQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWYQQHPGKAPKLMYDVSDRPSGVSDRFSGSKSGNTASLII
SGLQADDEADYYCSSYSSSTHVIFGGGKVTVLGAASDAHKSEVAHRFKDLGEENFKAL
VLIAFAQYLQQSPFEDHVKLNVNTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRET
YGEMADCCAKQEPERNECFHQKDDNPNLPRPVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKYLYEIA
RRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRLDEGKASSAKQRLKASLQ

5

KFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTQVHTECCHGDLLECADDRADLAKYI
 CENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDV
 FLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQN
 LIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMP
 CAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETTF
 HADICTLSEKERQIKKQALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFA
 EEGKKLVAASQAALGL*GS

141. SEQ ID NO: 159 (V1089, NT)

GAATTCGCGACCATGGCTGTGATGGCTCCACGAACCCTGGTCCTGCTGCTGTCCGGCGC
 A
 CTGGCACTGACTCAGACTTGGGCTGGGGATGCTCATAAGTCTGAGGTGGCACACAGGTT
 C
 AAAGATCTGGGCGAGGAAAACCTTTAAGGCCCTGGTCCTGATCGCTTTCGCACAGTACCT
 G
 CAGCAGAGCCCTTTTGAGGACCACGTGAAACTGGTCAACGAGGTGACCGAGTTCGCCA
 AG
 ACATGCGTGGCTGACGAGTCAGCAGAAAATTGTGATAAAAGCCTGCATACCCTGTTTGG
 G
 GATAAGCTGTGCACCGTGGCCACACTGAGAGAGACATACGGAGAAATGGCCGACTGCT
 GT
 GCTAAACAGGAGCCTGAAAGGAACGAGTGCTTCCTGCAGCATAAGGACGATAACCCAA
 AT
 CTGCCCAGACTGGTGAGGCCAGAAGTGGACGTCATGTGTACTGCTTTCACGATAATGA
 G
 GAAACCTTTCTGAAGAAATACCTGTATGAGATCGCCCGGAGACATCCTTACTTTTATGC
 A
 CCAGAACTGCTGTTCTTTGCCAAACGCTACAAGGCCGCTTTCACCGAGTGCTGTCAGGC
 A
 GCCGATAAAGCTGCATGCCTGCTGCCCAAGCTGGACGAGCTGCGAGATGAAGGGAAGG
 CA
 AGCTCCGCCAAACAGCGGCTGAAGTGTGCTAGCCTGCAGAAATTCGGAGAGCGAGCCT
 TC
 AAGGCATGGGCTGTGGCACGACTGAGTCAGCGATTCCCTAAGGCTGAGTTTGCAGAAGT
 C
 TCAAACTGGTGACTGACCTGACCAAGGTGCACACCGAGTGCTGTCATGGCGACCTGCT
 G
 GAATGCGCCGACGATAGAGCCGATCTGGCTAAGTACATCTGTGAGAATCAGGACTCTAT
 T
 TCTAGTAAGCTGAAAGAGTGCTGTGAAAAACCCCTGCTGGAGAAGAGCCACTGCATCG
 CC
 GAGGTGGAACGACGAAATGCCTGCTGATCTGCCATCCCTGGCCGCTGACTTCGTGGA
 G
 TCTAAAGATGTCTGTAAGAATTACGCCGAAGCTAAGGATGTGTTCTGGGCATGTTTCT
 G
 TACGAGTATGCTAGGCGCCACCCAGACTACAGCGTGGTCCTGCTGCTGCGGCTGGCCAA

5

A
 ACCTATGAGACCACACTGGAAAAGTGCTGTGCAGCCGCTGATCCCCATGAGTGCTATGC
 C
 AAAGTGTTTCGACGAGTTCAAGCCCCTGGTCGAGGAACCTCAGAACCTGATCAAGCAGA
 AT
 TGTGAGCTGTTTGAACAGCTGGGCGAGTACAAGTTCCAGAACGCCCTGCTGGTGAGATA
 T
 ACCAAGAAAAGTCCCACAGGTGAGTACTCCCACCCTGGTGGAGGTCTCACGCAATCTGG
 GA
 AAAGTGGGCAGCAAATGCTGTAAGCACCCCTGAGGCCAAGCGAATGCCATGCGCTGAAG
 AT
 TACCTGTCTGTGGTCCTGAACCAGCTGTGTGTGCTGCATGAGAAAACCTCCAGTCAGTGA
 C
 AGGGTGACAAAGTGCTGTACTGAATCCCTGGTGAATCGACGGCCATGCTTTTCTGCCCT
 G
 GAGGTGGATGAAACATATGTCCCCAAAGAGTTCCAGGCTGAAACATTCACCTTTTCACGC
 A
 GACATCTGTACTCTGTCCGAGAAGGAACGCCAGATTAAGAAACAGACCGCCCTGGTCG
 AG
 CTGGTGAAGCATAAACCCAAGGCCACAAAAGAACAGCTGAAGGCTGTGATGGACGATT
 TC
 GCAGCCTTTGTCTGAGAAATGCTGTAAGGCAGACGATAAGGAAACTTGCTTTGCCGAGG
 AA
 GGCAAGAAACTGGTGGCTGCAAGCCAGGCAGCTCTGGGACTGGCAGCAGCTCTGCAGG
 TC
 CAGCTGGTGCAGTCCGGAGCAGAGGTGAAGAAACCTGGAGAAAGTCTGAAAATCTCCT
 GT
 AAGGGAAGCGGCTACTCCTTCACCTCTTATTGGATTGCCTGGGTGCGGCAGATGCCAGG
 G
 AAAGGACTGGAGTACATGGGCCTGATCTATCCCGGGGACAGCGATACAAAGTACAGTC
 CT
 TCATTTTCAGGGCCAGGTCACAATTTCCGTGGATAAAAGCGTCTCCACTGCCTATCTGCA
 G
 TGGTCAAGCCTGAAGCCCTCTGACAGTGCAGTGTACTTCTGCGCCAGGCACGACGTCCG
 C
 TATTGCACAGATCGCACTTGTGCCAAGTGGCCTGAGTGGCTGGGAGTGTGGGGACAGG
 GA
 ACCCTGGTCACAGTCTCCTCTGGCGGAGGAGGCAGTTCAGGAGGAGGCAGCGGAGGAG
 GA
 GGGTCACAGAGCGTGCTGACACAGCCACCTTCCGTCTCTGCAGCACCAGGACAGAAAG
 TG
 ACTATCAGTTGCTCAGGAAGCTCCTCTAACATTGGCAACAATTACGTGTCCTGGTATCA
 G
 CAGCTGCCCCGAACCGCTCCTAAGCTGCTGATCTACGATCACACAAATCGACCAGCAGG
 A
 GTGCCAGACCGGTTTCAGCGGGTCCAAGTCTGGAAGTAGTGCATCACTGGCCATTAGCGG
 G

TTCAGGTCCGAGGACGAAGCTGATTACTATTGCGCATCTTGGGACTATACCCTGAGTGG
 A
 TGGGTGTTTCGAGGCGGGACTAAGCTGACCGTCCTGGGCTGAGGATCC

5

142. SEQ ID NO: 160 (V1089, AA)

EFATMAVMAPRTLVL LLSGALALTQTWAGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYL
 QQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCC
 AKQEPERNECFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAP
 ELLFFAKRYKAAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFK
 AWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISS
 KLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYE
 YARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC EL
 FEQLGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLS
 VVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFTFHADICTL
 SEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLV
 AASQAALGLAAALQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQMPGKGLEY
 MGLIYPGDSDTKYSPSFQGGQVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSAVYFCARHDVGYCTDRT
 CAKWPEWLGVWQGTLVTVSSGGGGSSGGGSGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSG
 SSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAISGRSEDEAD
 YYCASWDYTLSGWVFGGGTKLTVLG*GS

143. SEQ ID NO: 161 (CL_#1105_antiHER3_1_HSA-1_337_DSS)

5

GAATTCGCGACCATGGCCGTGATGGCTCCTAGAACACTGGTGCTGCTGCTGTCCGGGGC
 T
 CTGGCTCTGACTCAGACTTGGGCTGGGCAGGTGCAGCTGCAGGAGAGCGGAGGAGGAC
 TG
 GTGAAACCAGGAGGGTCTCTGCGACTGAGTTGCGCAGCTTCAGGCTTCACCTTTAGCTC
 C
 TACTGGATGTCCTGGGTCCGACAGGCACCTGGGAAGGGACTGGAATGGGTGGCCAACA
 TC
 AATCGGGACGGAAGCGCTTCCTACTATGTGGATAGCGTCAAAGGCCGCTTTACCATTAG
 T
 CGAGACGATGCTAAGAACTCACTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGCGCGCTGAGGATA
 CA
 GCAGTCTACTATTGCGCAAGGGACCGAGGAGTGGGATATTCGATCTGTGGGGACGAG
 GC
 ACTCTGGTGACCGTCTCTAGTGCCAGCACAGGCGGAGGAGGATCAGGAGGAGGAGGCA
 GC
 GGAGGAGGCGGGTCTCAGAGTGCCCTGACTCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGGTCCCCCG
 GA
 CAGAGCATCACCATTTCTGTACCGGCACATCAAGCGACGTCCGAGGCTACAACCTTTGT
 G
 TCCTGGTATCAGCAGCACCCAGGAAAGGCCCCCAAAGTATGATCTACGACGTCTCTGA
 T
 CGGCCTAGCGGCGTGTCCGATAGATTCTCTGGCAGTAAGTCAGGGAATACTGCCTCTCT

G
ATCATTAGTGGCCTGCAGGCCGACGATGAGGCTGACTACTATTGCTCCTCTTATGGGAG
T
TCAAGCACCCATGTGATCTTTGGGGGAGGCACAAAAGTGACTGTCCTGGGGGGAGGCT
CC
GATGCACACAAGTCTGAGGTCGCCCATAGGTTCAAAGACCTGGGCGAGGAAAACCTTA
AG
GCCCTGGTGCTGATTGCTTTTCGCACAGTACCTGCAGCAGTGCCCATTTGAAGATCACGT
G
AAACTGGTCAACGAGGTGACAGAGTTCGCCAAGACTTGCGTGGCAGACGAGTCCGCCG
AA
AATTGTGATAAATCTCTGCATACACTGTTTGGGGATAAGCTGTGTACCGTGGCCACACT
G
AGAGAGACTTATGGAGAAATGGCTGACTGCTGTGCAAAACAGGAGCCTGAAAGGAACG
AG
TGCTTCCTGCAGCACAAAGGACGATAACCCCAATCTGCCTCGACTGGTGCGGCCAGAAGT
G
GACGTCATGTGTACCGCTTTCCACGATAATGAGGAAACATTTCTGAAGAAATACCTGTA
T
GAGATCGCCCGGAGACATCCCTACTTTTATGCTCCTGAACTGCTGTTCTTTGCAAAGCGC
TACAAAGCAGCCTTCACAGAGTGCTGTCAGGCTGCAGATAAGGCCGCTTGCCTGCTGCC
A
AAACTGGACGAGCTGAGGGATGAAGGGAAAGCTTCCTCTGCAAAGCAGCGCCTGAAAT
GT
GCATCCCTGCAGAAGTTCGGCGAGCGGGCCTTTAAAGCCTGGGCTGTGGCAAGACTGTC
C
CAGAGGTTCCCCAAGGCCGAGTTTGCTGAAGTCTCTAAGCTGGTGACTGACCTGACCAA
A
GTGCACACTGAGTGCTGTCATGGCGACCTGCTGGAATGCGCCGACGATAGAGCAGATCT
G
GCCAAGTACATCTGTGAGAATCAGGACAGCATTAGTTCAAAGCTGAAAGAGTGCTGTG
AA
AAGCCCCTGCTGGAGAAAAGCCACTGCATTGCTGAGGTGGAAAACGACGAAATGCCTG
CA
GATCTGCCAAGTCTGGCAGCCGACTTCGTCGAGAGCAAGGATGTGTGTAAAAATTATGC
C
GAAGCTAAGGACGTGTTCTGCGGCATGTTTCTGTACGAGTATGCAAGAGCCTGAGGATC
C

144. SEQ ID NO: 162 (CL_#1105_antiHER3_1_HSA-1_337_DSS)

EFATMAVMAPRTLVLVLLSGALALTQTWAGQVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS
YWMSWVRQAPGKLEWVANINRDGSASYVDSVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAED
TAVYYCARDRGVGYFDLWGRGTLTVSSASTGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSP
GQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWYQQHPGKAPKLMYDVSDRPSGVSDRFSKSGNTASLII
SGLQADDEADYYCSSYSSSTHVIFGGGTKVTVLGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKAL
VLIAFAQYLQQCPFEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRET

5

YGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIA
RRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFECCQAADKAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRLKASLQ
KFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYI
CENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDV
FLGMFLYEYARA*GS

145. SEQ ID NO: 163 (CL_#668_HSA-342-585DSS_4D5scFv-Subclonación)

GAATTCGCCACTATGGCCGTCATGGCACCTAGAACACTGGTCCTGCTGCTGAGCGGGGC
A
CTGGCACTGACACAGACTTGGGCTGGGTCCGTCGTCCTGCTGCTGAGACTGGCTAAGAC
C
TACGAGACCACACTGGAAAAATGCTGTGCCGCTGCAGACCCCCACGAGTGCTATGCCA
AG
GTGTTTCGATGAGTTCAAGCCTCTGGTTCGAGGAACACAGAACCTGATCAAGCAGAATTG
T
GAGCTGTTTGAACAGCTGGGCGAGTACAAATTTTCAAGACGCCCTGCTGGTGAGGTATAC
A
AAGAAAGTGCCCCAGGTCTCTACACCTACTCTGGTGGAGGTCAGTAGGAATCTGGGCAA
G
GTCGGGTCAAAATGCTGTAAGCACCCAGAGGCCAAACGCATGCCCTGCGCTGAAGACT
AC
CTGTCTGTGGTCCTGAACCAGCTGTGTGTGCTGCATGAGAAGACCCCTGTGAGCGATCG
A
GTCACCAAATGCTGTACAGAAAGCCTGGTGAATCGGAGACCCTGCTTTTCCGCTCTGGA
G
GTGGACGAAACATATGTCCCTAAGGAGTTCAATGCAGAAACCTTCACATTTACGCCGA
T
ATCTGTACTCTGTCCGAGAAGGAACGCCAGATTAAGAAACAGACCGCCCTGGTGGAGC
TG
GTCAAGCATAAACCAAAGGCTACTAAGGAACAGCTGAAAGCAGTGATGGACGATTTTCG
CC
GCTTTTGTGAGAAATGCTGTAAGGCAGACGATAAGGAAACCTGCTTTGCCGAGGAAG
GC
AAGAAACTGGTGGCAGCCAGCCAGGCTGCACTGGGACTGGGAGGGTCCGGAGGCTCTG
GA
GGAAGTGGAGGGTTCAGGAGGCGACATCCAGATGACACAGAGCCCAAGCTCCCTGTCAG
CA
AGCGTGGGCGACCGAGTCACTATTACCTGTCGGGCCTCCCAGGATGTGAATACTGCAGT
C
GCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGAAAGGCTCCCAAACCTGCTGATCTACTCCGCATCTTT
C
CTGTATAGCGGCGTGCCATCCAGGTTTAGTGGATCACGCAGCGGCACAGACTTCACACT
G
ACTATTTCTAGTCTGCAGCCCGAGGATTTTGCCACTTACTATTGCCAGCAGCACTATACT
ACCCCCCTACCTTCGGACAGGGCACAAAGGTGGAGATCAAGGGAGGATCTGGAGGAG

GA
 AGTGGAGGAGGATCAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGCAGCGGAGAGGTGCAGCTGGTC
 GAA
 TCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGGAGGGTCTCTGCGACTGAGTTGTGCCGCTTCAGG
 C
 TTTAACATCAAGGACACCTACATTCATTGGGTGCGGCAGGCACCTGGGAAGGGACTGG
 AG
 TGGGTCGCTAGAACTCTATCCAACTAATGGGTACACCAGATATGCCGACAGCGTGAAGG
 GA
 AGGTTACCATTAGCGCCGATACATCCAAAAACACTGCTTACCTGCAGATGAACAGCCT
 G
 CGCGCTGAGGATACAGCAGTGTACTATTGCAGTCGATGGGGCGGCGATGGGTTCTACGC
 A
 ATGGACTACTGGGGACAGGGGACTCTGGTCACCGTCAGCAGCTGAGGATCC

146. SEQ ID NO: 164 (CL_#668_HSA-342-585DSS_4D5scFv-Subclonación, AA)

EFATMAVMAPRTLVL LLSGALALTQTWAGSVVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK
 VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKV
 GSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVD
 ETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV
 EKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGSGGSGGSGGSGGDIQMTQSPSSLSASVG
 DRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQ
 PEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGEVQLVESGGGLV
 QPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISAD
 TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVSS*GS

147. SEQ ID NO 165 (CL_#1105_antiHER3_1_HSA-1_337_DSS>

GAATTCGCGACCATGGCCGTGATGGCTCCTAGAACACTGGTGCTGCTGCTGTCCGGGGC
 T
 CTGGCTCTGACTCAGACTTGGGCTGGGCAGGTGCAGCTGCAGGAGAGCGGAGGAGGAC
 TG
 GTGAAACCAGGAGGGTCTCTGCGACTGAGTTGCGCAGCTTCAGGCTTCACCTTTAGCTC
 C
 TACTGGATGTCCTGGGTCCGACAGGCACCTGGGAAGGGACTGGAATGGGTGGCCAACA
 TC
 AATCGGGACGGAAGCGCTTCCTACTATGTGGATAGCGTCAAAGGCCGCTTTACCATTAG
 T
 CGAGACGATGCTAAGAACTCACTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGCGCGCTGAGGATA
 CA
 GCAGTCTACTATTGCGCAAGGGACCGAGGAGTGGGATATTTCGATCTGTGGGGACGAG
 GC
 ACTCTGGTGACCGTCTCTAGTGCCAGCACAGGCGGAGGAGGATCAGGAGGAGGAGGCA
 GC
 GGAGGAGGCGGGTCTCAGAGTGCCCTGACTCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGGTCCCCCG
 GA

CAGAGCATCACCATTTCTGTACCGGCACATCAAGCGACGTCGGAGGCTACAACTTTGT
 G
 TCCTGGTATCAGCAGCACCCAGGAAAGGCCCCCAAAGTATGATGATCTACGACGTCTCTGA
 T
 CGGCCTAGCGGCGTGTCCGATAGATTCTCTGGCAGTAAGTCAGGGAATACTGCCTCTCT
 G
 ATCATTAGTGGCCTGCAGGCCGACGATGAGGCTGACTACTATTGCTCCTCTTATGGGAG
 T
 TCAAGCACCCATGTGATCTTTGGGGGAGGACAAAAAGTGACTGTCCTGGGGGGAGGCT
 CC
 GATGCACACAAGTCTGAGGTCGCCCATAGGTTCAAAGACCTGGGCGAGGAAAACTTTA
 AG
 GCCCTGGTGCTGATTGCTTTCGCACAGTACCTGCAGCAGTGCCCATTTGAAGATCACGT
 G
 AAAGTGGTCAACGAGGTGACAGAGTTCGCCAAGACTTGCGTGGCAGACGAGTCCGCCG
 AA
 AATTGTGATAAATCTCTGCATACACTGTTTGGGGATAAGCTGTGTACCGTGGCCACACT
 G
 AGAGAGACTTATGGAGAAATGGCTGACTGCTGTGCAAAACAGGAGCCTGAAAGGAACG
 AG
 TGCTTCCTGCAGCACAAGGACGATAACCCCAATCTGCCTCGACTGGTGCGGCCAGAAGT
 G
 GACGTCATGTGTACCGCTTTCACGATAATGAGGAAACATTTCTGAAGAAATACCTGTA
 T
 GAGATCGCCCGGAGACATCCCTACTTTTATGCTCCTGAACTGCTGTTCTTTGCAAAGCGC
 TACAAAGCAGCCTTCACAGAGTGCTGTCAGGCTGCAGATAAGGCCGCTTGCCTGCTGCC
 A
 AAAGTGGACGAGCTGAGGGATGAAGGGAAAGCTTCCTCTGCAAAGCAGCGCCTGAAAT
 GT
 GCATCCCTGCAGAAGTTCGGCGAGCGGGCCTTTAAAGCCTGGGCTGTGGCAAGACTGTC
 C
 CAGAGGTTCCCCAAGGCCGAGTTTGCTGAAGTCTCTAAGCTGGTGACTGACCTGACCAA
 A
 GTGCACACTGAGTGCTGTCATGGCGACCTGCTGGAATGCGCCGACGATAGAGCAGATCT
 G
 GCCAAGTACATCTGTGAGAATCAGGACAGCATTAGTTCAAAGCTGAAAGAGTGCTGTG
 AA
 AAGCCCCTGCTGGAGAAAAGCCACTGCATTGCTGAGGTGGAAAACGACGAAATGCCTG
 CA
 GATCTGCCAAGTCTGGCAGCCGACTTCGTCGAGAGCAAGGATGTGTGTAAAAATTATGC
 C
 GAAGCTAAGGACGTGTTTCTGGGCATGTTTCTGTACGAGTATGCAAGAGCCTGAGGATC
 C

148. SEQ ID NO: 166 (CL_#1105_antiHER3_1_HSA-1_337_DSS, AA)

EFATMAVMAPRTLVL LLSGALALTQTWAGQVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS
 YWMSWVRQAPGKGLEWVANINRDGSASYVDSVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAED
 TAVYYCARDRGVGYFDLWGRGTLVTVSSASTGGGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSP
 GQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWYQQHPGKAPKLMYDVSDRPSGVSDRFSGSKSGNTASLII
 SGLQADDEADYYCSSYSSSTHVIFGGGTKVTVLGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKAL
 VLIAFAQYLQQCPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRET
 YGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIA
 RRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKCASLQ
 KFGERAFFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYI
 CENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDV
 FLGMFLYEYARA*GS

149. SEQ ID NO: 167 (CL_#667_4D5scFv_HSA-342-585DSS-Subclonación)

GAATTCGCCACTATGGCCGTGATGGCACCTAGAACACTGGTCCTGCTGCTGAGCGGGGC
 A
 CTGGCACTGACACAGACTTGGGCTGGAGACATT CAGATGACACAGAGCCCAAGCTCCC
 TG
 TCCGCATCTGTGGGCGACCGAGTCACAATCACTTGCCGGGCCTCCCAGGATGTGAACAC
 T
 GCTGTCGCATGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAGGCTCCCAA ACTGCTGATCTACAGTG
 CA
 TCATTCCTGTATAGTGGCGTGCCATCAAGGTTTAGCGGCTCCCGATCTGGAACCGACTTC
 ACCCTGACAATCTCTAGTCTGCAGCCCAGGATTTTGCCACATACTATTGCCAGCAGCA
 C
 TATACCACACCCCCTACTTTCGGGCAGGGAACCAAGGTGGAGATCAAGGGAGGGAGCG
 GA
 GGAGGGTCCGGAGGAGGGTCTGGAGGCGGGAGTGGAGGAGGGTCAGGAGAGGTGCAG
 CTG
 GTCGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGGAGGCAGCCTGCGACTGTCCTGTGCCG
 CT
 TCTGGCTTTAACATCAAGGACACCTACATTCATTGGGTGCGGCAGGCACCTGGCAAAGG
 A
 CTGGAGTGGGTGGCTAGAATCTATCCA ACTAATGGATACACCAGATATGCTGACAGCGT
 G
 AAGGGCAGGTTTACTATCAGTGCTGATACATCAAAGAACACTGCATACCTGCAGATGAA
 T
 AGCCTGCGCGCCGAGGATACCGCTGTGTACTATTGTAGCCGATGGGGGGGAGACGGCTT
 C
 TACGCCATGGATTATTGGGGACAGGGCACCCCTGGTGACAGTCTCAAGCGGAGGGAGTG
 GA
 GGCTCAGGAGGAAGCGGAGGGTCCGGAGGCTCTGTGGTCCTGCTGCTGAGACTGGCTA
 AG
 ACCTACGAGACTACCCTGGAAAAATGCTGTGCAGCCGCTGACCCCCACGAGTGCTATGC
 A
 AAGGTGTTTCGATGAGTTCAAGCCTCTGGTCGAGGAACCACAGAACCTGATCAAGCAGA
 AT

TGTGAGCTGTTCTGAACAGCTGGGCGAGTACAAGTTTCAGAACGCCCTGCTGGTGAGGTA
T
ACAAAGAAAGTGCCCCAGGTCAGCACTCCTACCCTGGTGGAGGTCTCCAGGAATCTGG
GG
AAGGTCGGATCTAAGTGCTGTAAACACCCAGAGGCAAAACGCATGCCCTGCGCCGAAG
AC
TACCTGTCCGTGGTCCTGAATCAGCTGTGTGTGCTGCATGAGAAGACCCCTGTGTCTGAT
CGAGTCACCAAATGCTGTACAGAAAGTCTGGTGAACCGGAGACCCTGCTTTTCTGCCCT
G
GAGGTGGACGAAACATATGTCCCTAAGGAGTTCAATGCCGAAACATTCACCTTTTACGC
T
GATATCTGTACACTGTCCGAGAAGGAACGCCAGATTAAGAAACAGACTGCTCTGGTGG
AG
CTGGTCAAGCATAAACCAAAGGCAACCAAGGAACAGCTGAAAGCCGTGATGGACGATT
TC
GCAGCCTTTGTCGAGAAGTGCTGTAAAGCCGACGATAAGGAAACTTGTTTCGCCGAGGA
A
GGCAAAAACTGGTCGCAGCATCACAGGCAGCACTGGGACTGTGAGGATCC

150. SEQ ID NO: 168 (CL_#667_4D5scFv_HSA-342-585DSS-Subclonación)

EFATMAVMAPRTLVLALLSGALALTQTWAGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTA
VAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQHHYTP
PTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFI
KDTYIHWVRQAPGKLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAE
DTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQTLTVSSGGSGGGSGGGSGGSSVLLLRALAKTYET
TLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQNCLEQLGEYKFNALLVRYTKKVP
QVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKC
CTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQALVELVKHKPK
ATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFEEGKKLVAAASQAALGL*GS

151. SEQ ID NO: 169 (CL_#1105_antiHER3_1_HSA-1_337_DSS>

GAATTCGCGACCATGGCCGTGATGGCTCCTAGAACACTGGTGCTGCTGCTGTCCGGGGC
T
CTGGCTCTGACTCAGACTTGGGCTGGGCAGGTGCAGCTGCAGGAGAGCGGAGGAGGAC
TG
GTGAAACCAGGAGGGTCTCTGCGACTGAGTTGCGCAGCTTCAGGCTTCACCTTTAGCTC
C
TACTGGATGTCCTGGGTCCGACAGGCACCTGGGAAGGGACTGGAATGGGTGGCCAACA
TC
AATCGGGACGGAAGCGCTTCCTACTATGTGGATAGCGTCAAAGGCCGCTTTACCATTAG
T
CGAGACGATGCTAAGAACTCACTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGCGCGCTGAGGATA
CA
GCAGTCTACTATTGCGCAAGGGACCGAGGAGTGGGATATTCGATCTGTGGGGACGAG
GC

ACTCTGGTGACCGTCTCTAGTGCCAGCACAGGCGGAGGAGGATCAGGAGGAGGAGGCA
 GC
 GGAGGAGGCGGGTCTCAGAGTGCCCTGACTCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGGTCCCCCG
 GA
 CAGAGCATCACCATTTCCTGTACCGGCACATCAAGCGACGTCGGAGGCTACAACCTTTGT
 G
 TCCTGGTATCAGCAGCACCCAGGAAAGGCCCCCAAACCTGATGATCTACGACGTCTCTGA
 T
 CGGCCTAGCGGCGTGTCCGATAGATTCTCTGGCAGTAAGTCAGGGAATACTGCCTCTCT
 G
 ATCATTAGTGGCCTGCAGGCCGACGATGAGGCTGACTACTATTGCTCCTCTTATGGGAG
 T
 TCAAGCACCCATGTGATCTTTGGGGGAGGCACAAAAGTGACTGTCCTGGGGGGAGGCT
 CC
 GATGCACACAAGTCTGAGGTGCGCCATAGGTTCAAAGACCTGGGCGAGGAAAACCTTTA
 AG
 GCCCTGGTGCTGATTGCTTTCGCACAGTACCTGCAGCAGTGCCCATTTGAAGATCACGT
 G
 AAACCTGGTCAACGAGGTGACAGAGTTCGCCAAGACTTGCGTGGCAGACGAGTCCGCCG
 AA
 AATTGTGATAAATCTCTGCATACACTGTTTGGGGATAAGCTGTGTACCGTGGCCACACT
 G
 AGAGAGACTTATGGAGAAATGGCTGACTGCTGTGCAAAACAGGAGCCTGAAAGGAACG
 AG
 TGCTTCCTGCAGCACAAAGGACGATAACCCCAATCTGCCTCGACTGGTGCGGCCAGAAGT
 G
 GACGTCATGTGTACCGCTTTCCACGATAATGAGGAAACATTTCTGAAGAAATACCTGTA
 T
 GAGATCGCCCGGAGACATCCCTACTTTTATGCTCCTGAACTGCTGTTCTTTGCAAAGCGC
 TACAAAGCAGCCTTCACAGAGTGCTGTCAGGCTGCAGATAAGGCCGCTTGCTGCTGCC
 A
 AAACCTGGACGAGCTGAGGGATGAAGGGAAAGCTTCCTCTGCAAAGCAGCGCCTGAAAT
 GT
 GCATCCCTGCAGAAGTTCGGCGAGCGGGCCTTTAAAGCCTGGGCTGTGGCAAGACTGTC
 C
 CAGAGGTTCCCCAAGGCCGAGTTTGCTGAAGTCTCTAAGCTGGTGACTGACCTGACCAA
 A
 GTGCACACTGAGTGCTGTCATGGCGACCTGCTGGAATGCGCCGACGATAGAGCAGATC
TG
 GCCAAGTACATCTGTGAGAATCAGGACAGCATTAGTTCAAAGCTGAAAGAGTGCTGTG
 AA
 AAGCCCCTGCTGGAGAAAAGCCACTGCATTGCTGAGGTGGAAAACGACGAAATGCCTG
 CA
 GATCTGCCAAGTCTGGCAGCCGACTTCGTCGAGAGCAAGGATGTGTGTAAAAATTATGC
 C
 GAAGCTAAGGACGTGTTCTTGGGCATGTTTCTGTACGAGTATGCAAGAGCCTGAGGATC
 C

152. SEQ ID NO: 170 (CL_#1105_antiHER3_1_HSA-1_337_DSS, aa)

EFATMAVMAPRTLVLVLLSGALALTQTWAGQVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS
 YWMSWVRQAPGKGLEWVANINRDGSASYVDSVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAED
 TAVYYCARDRGVGYFDLWGRGTLVTVSSASTGGGSGGGGSGGGGSSQALTQPASVSGSP
 GQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWYQQHPGKAPKLMYDVSDRPSGVSDRFSGSKSGNTASLII
 SGLQADDEADYYCSSYGSSSTHVIFGGGTKVTVLGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKAL
 VLIAFAQYLQQCPFEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRET
 YGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIA
 RRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKCASLQ
 KFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKEVHTECHGDLLECADDRADLAKYI
 CENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDV
 FLGMFLYEYARA*GS

153. SEQ ID NO: 171 (CL_#1106_HSA-342_585_DSS_antiHER2_2, nt)

GAATTCGCGACCATGGCTGTGATGGCTCCTCGAACCCCTGGTGCTGCTGCTGTCCGGCGC
 T
 CTGGCTCTGACTCAGACTTGGGCTGGCTCCGTGGTGCTGCTGCTGAGGCTGGCCAAAAC
 C
 TACGAGACCACACTGGAAAAGTGCTGTGCCGCTGCAGACCCCTCACGAGTGCTATGCTAA
 A
 GTCTTCGATGAGTTCAAGCCCCTGGTGGAGGAACCTCAGAACCTGATCAAACAGAATTG
 T
 GAGCTGTTCGAACAGCTGGGCGAGTACAAGTTTCAGAACGCCCTGCTGGTGCGCTATAC
 C
 AAGAAAGTGCCACAGGTCAGCACTCCCACCCTGGTGGAGGTCTCCAGAAATCTGGGGA
 AA
 GTGGGATCTAAATGCTGTAAGCACCCCTGAGGCAAAGAGGATGCCATGCGCCGAAGACT
 AC
 CTGAGCGTGGTCCTGAACCAGCTGTGTGTGCTGCATGAGAAAACCCAGTGTCGGATCG
 C
 GTCACCAAGTGCTGTACAGAAAGCCTGGTGAACCGGAGACCATGCTTCTCCGCCCTGGA
 G
 GTCGACGAAACATACGTGCCCAAGGAGTTTAATGCTGAAACATTCACTTTCCACGCAGA
 T
 ATCTGTACCCTGAGCGAGAAGGAACGACAGATTAAGAAACAGACAGCCCTGGTGGAGC
 TG
 GTCAAGCATAAACCCAAGGCCACCAAAGAACAGCTGAAGGCTGTCATGGACGATTTCG
 CC
 GCTTTTGTGGAGAAATGCTGTAAGGCAGACGATAAGGAAACATGCTTCGCCGAGGAAG
 GC
 AAGAAACTGGTGGCAGCATCCCAGGCTGCACTGGGACTGGGAGGGAGTGGACAGGTGC
 AG
 CTGGTCCAGAGCGGAGCAGAGGTGAAGAAACCCGGCGAATCACTGAAAATCAGCTGTA

5

AG
GGGTCCGGATACTCTTTTACTAGTTATTGGATTGCCTGGGTGCGGCAGATGCCTGGCAA
A
GGGCTGGAGTACATGGGGCTGATCTATCCCGGAGACTCTGATACAAAGTACTCACCTAG
C
TTCCAGGGCCAAGTGACTATTAGCGTCGACAAATCCGTGTCTACCGCTTATCTGCAGTG
G
AGCTCCCTGAAGCCTAGTGATTCAGCTGTCTACTTTTGCGCACGACACGACGTGGGCTA
T
TGCACCGATCGGACATGTGCCAAGTGGCCAGAGTGGCTGGGAGTGTGGGGACAGGGAA
CT
CTGGTGACCGTCTCTAGTGGAGGCGGGGGATCAAGCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAG
GC
AGCCAGTCCGTCTGACTCAGCCACCTTCTGTGAGTGCAGCTCCAGGACAGAAGGTGAC
C
ATCTCATGCAGCGGCTCCTCTAGTAACATTGGGAACAATTACGTGAGCTGGTATCAGCA
G
CTGCCAGGAACAGCTCCCAAAGTGTGATCTACGACCATACTAATAGGCCTGCAGGCGT
G
CCAGATCGCTTCTCCGGCTCTAAGAGTGGGACATCAGCAAGCCTGGCCATTTCCGGCTT
T
AGATCTGAGGACGAAGCCGATTACTATTGTGCTAGTTGGGACTATACTCTGTCAGGGTG
G
GTCTTCGGGGGAGGCACAAAGCTGACTGTGCTGGGATGAGGATCC

154. SEQ ID NO: 172 (CL_#1106_HSA-342_585_DSS_antiHER2_2, AA)

EFATMAVMAPRTLVLVLLSGALALTQTWAGSVVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK
VFDEFKPLVEEPQNLKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKV
GSKCKKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVD
ETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV
EKCKKADDKETCFAEEGKKLV AASQAALGLGGSGQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSG
YSFTSYWIAWVRQMPGKGLEYMGLIYPGDSDTKYSPSFQGGQVTISVDKSVSTAYLQWSSLK
PSDSAVYFCARHDVGYCTDRTCAKWPEWLGVWGQGTTLTVSSGGGGSSGGGSSGGGSSQS
VLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDHTNRPAGVPDRFS
5 GSKSGTSASLAISGRSEDEADYYCASWDYTLSGWVFGGGTKLTVLG*GS

155. SEQ ID NO: 173 (HER2_scFv)

QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQMPGKGLEYMGLIYPGDSDTKY
SPSFQGGQVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSAVYFCARHDVGYCTDRTCAKWPEWLGVWG
QGTTLTVSSGGGGSSGGGSSGGGSSQS VLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWY
QQLPGTAPKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAISGRSEDEADYYCASWDYTLSG
10 WVFGGGTKLTVLG

156. SEQ ID NO: 174 (HER3_scFv)

QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANINRDGSASY
YVDSVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGVGYFDLWGRGTLTVSS
ASTGGGGSSGGGSSGGGSSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWYQQHPG
KAPKLMYDVS DRPSGVSDRFSGSKSGNTASLIISGLQADDEADYYCSSYSSSTHVIFGGGT
15 KVTVLG

REIVINDICACIONES

1. Un heteromultímero que comprende:

- 5 una primera construcción de polipéptido que comprende un primer polipéptido transportador y al menos una primera molécula de carga, opcionalmente donde la primera molécula de carga es un polipéptido de carga, opcionalmente donde la primera construcción de polipéptido comprende dos primeros polipéptidos de carga; y una segunda construcción de polipéptido que comprende un segundo polipéptido transportador;
- 10 y
donde dichos primer y segundo polipéptidos transportadores se obtienen por segmentación de un polipéptido de albúmina que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 1 en un sitio de segmentación, y donde la ubicación del sitio de segmentación es:
- 15 (a) entre los residuos 339 y 340 de la SEQ ID NO:1; o
(b) entre los residuos 300 y 301 de la SEQ ID NO:1; o
(c) entre los residuos 364 y 365 de la SEQ ID NO:1; o
(d) entre los residuos 441 y 442 de la SEQ ID NO:1; o
(e) entre los residuos 171 y 172 de la SEQ ID NO:1; o
(f) entre los residuos 281 y 282 de la SEQ ID NO:1; o
20 (g) después del residuo 83 y antes del residuo 85 de la SEQ ID NO:1 y el residuo 84 es eliminado; donde la numeración de los residuos comienza con el primer residuo después de la secuencia de señal, y donde dicho primer polipéptido transportador es diferente de dicho segundo polipéptido transportador, y dichos polipéptidos transportadores se autoensamblan para formar una estructura cuasi-nativa de la forma monomérica de dicho polipéptido de albúmina.

2. El heteromultímero de la reivindicación 1, donde:

al menos uno de los polipéptidos transportadores primero y segundo comprende además un enlazador, opcionalmente donde el enlazador es un enlazador GGGGS.

3. El heteromultímero de la reivindicación 1 o de la reivindicación 2, donde:

- (a) dicho primer polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO:39, y donde dicho segundo polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO:40;
- 35 (b) dicho primer polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO:41, y donde dicho segundo polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO:42;
- (c) dicho primer polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO:43, y donde dicho segundo polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO:44;
- 40 (d) dicho primer polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO:45, y donde dicho segundo polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO:46 del mismo;
- (e) dicho primer polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO:47, y donde dicho segundo polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO:48;
- (f) dicho primer polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO:49, y donde dicho segundo polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO:50;
- 45 (g) dicho primer polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO:51, y donde dicho segundo polipéptido transportador tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO:52; opcionalmente donde la primera y segunda secuencia de polipéptido transportador carece de una secuencia de señal.

4. El heteromultímero de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde:

- (a) dicha segunda construcción de polipéptidos comprende además al menos una segunda molécula de carga, opcionalmente donde la segunda molécula de carga es un polipéptido de carga, opcionalmente donde la segunda construcción de polipéptido comprende además dos segundos polipéptidos de carga, opcionalmente donde al menos un primer polipéptido de carga y/o al menos un segundo polipéptido de carga es una construcción de polipéptido de unión a antígeno, opcionalmente una construcción de polipéptido de unión a antígeno que se une a CD3, CD19, CD20, HER2 o HER3; o
- 55 (b) dicha segunda construcción de polipéptido comprende además al menos un segundo polipéptido de carga, opcionalmente donde:

- (i) dicho primer polipéptido de carga es una construcción de polipéptido de unión a antígeno que se une a CD3 y dicho segundo polipéptido de carga es una construcción de polipéptido de unión a antígeno que se une a CD19 o CD20, o
- 5 (ii) dicho primer polipéptido de carga es una construcción de polipéptido de unión a antígeno que se une a HER2 y dicho segundo polipéptido de carga es una construcción de polipéptido de unión a antígeno que se une a HER3, o
- (c) dicho al menos un primer polipéptido de carga se fusiona a dicho primer polipéptido transportador con un enlazador, opcionalmente donde dicho al menos un segundo polipéptido de carga se fusiona a dicho segundo polipéptido transportador con un enlazador.
- 10
5. El heteromultímero según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde dicho heteromultímero se une a FcRn.
- 15 6. El heteromultímero según la reivindicación 1, donde:
- los extremos C y N introducidos en el sitio de segmentación se fusionan con la secuencia de péptidos GGGGS.
7. El heteromultímero de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde:
- 20 (a) la primera construcción de polipéptidos comprende al menos un primer polipéptido de carga que se une a un antígeno diana, y la segunda construcción de polipéptidos comprende al menos un segundo polipéptido de carga que es una fracción de toxina,
- 25 (b) la primera construcción de polipéptidos comprende al menos un primer polipéptido de carga se une a un antígeno diana, y donde dicho antígeno diana es al menos uno de la cadena a (CD25) de IL-2R, beta Amiloide, anti-EpCAM, anti-CD3, CD16, CD20, CD22, CD23, CD3, CD4, CD52, CD80, CTLA-4, EGFR, EpCAM, proteína F de RSV, G250, glucoproteína IIB/IIIa R, HER2, HER3, IGF1R, EGFR, HSP90, anticuerpo IgE, IL-12, IL-23, IL-1b, IL-5, IL-6, RANKL, TNF alfa, TNFR, TRAIL, VEGF-A, receptor de glucagón, receptor de GLP y receptor de LDL; o
- 30 (c) al menos un polipéptido de carga es una enzima, hormona, polipéptido terapéutico, antígeno, quimiotoxina, radiotoxina, citocina o una variante o fragmento de los mismos.
8. El heteromultímero de cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, donde la estructura monomérica cuasi-nativa tiene una estabilidad térmica que es comparable a la de la albúmina, opcionalmente donde la estabilidad térmica se mide determinando la temperatura de fusión (T_m) de la estructura monomérica cuasi-nativa.
- 35 9. El heteromultímero de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde la actividad del polipéptido de carga es:
- (a) alterada selectivamente en la fusión con el polipéptido transportador en relación con su formato no fusionado,
- 40 o
- (b) atenuada selectivamente en la fusión con el polipéptido transportador en relación con su formato no fusionado.
10. Una célula huésped que comprende ácido nucleico que codifica el heteromultímero de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, opcionalmente donde:
- 45 (a) el ácido nucleico que codifica la primera construcción de polipéptidos y el ácido nucleico que codifica la segunda construcción de polipéptidos están presentes en un solo vector, o
- (b) el ácido nucleico que codifica la primera construcción de polipéptidos y el ácido nucleico que codifica la segunda construcción de polipéptidos están presentes en vectores separados.
- 50 11. Una composición farmacéutica que comprende el heteromultímero de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y un adyuvante.
12. La composición farmacéutica de la reivindicación 11 para uso en un procedimiento de tratamiento del
- 55 cáncer.
13. El heteromultímero de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para uso en un procedimiento de tratamiento del cáncer mediante la inhibición del crecimiento de un tumor o la reducción de un tumor, donde el procedimiento comprende poner en contacto el tumor con una cantidad efectiva del heteromultímero.

Figura 1

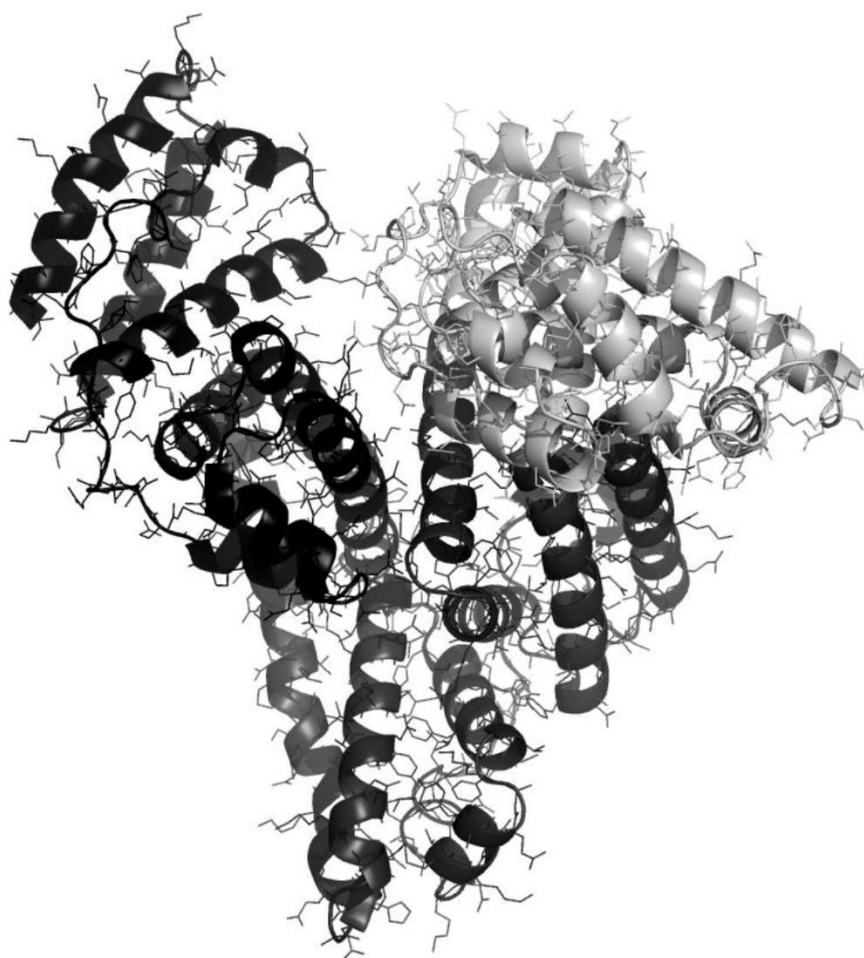


Figura 2

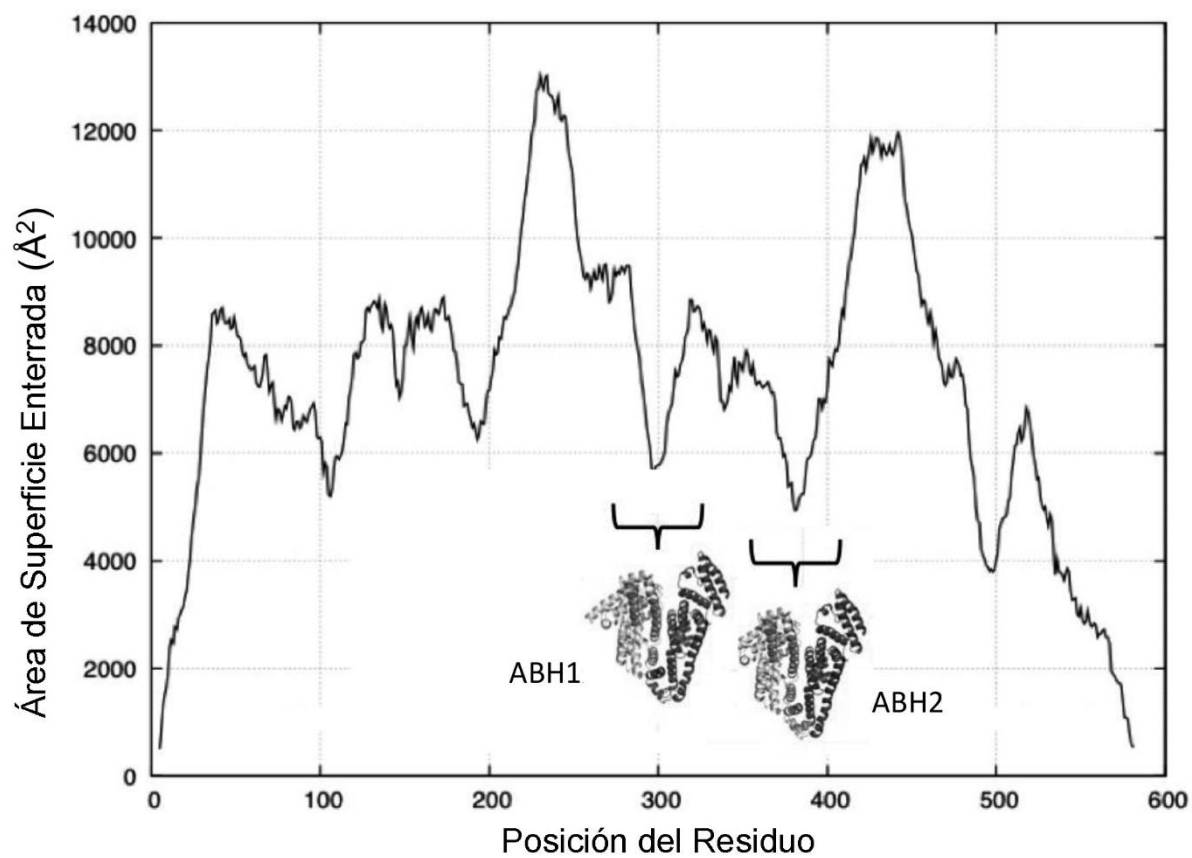


Figura 3



Figura 4

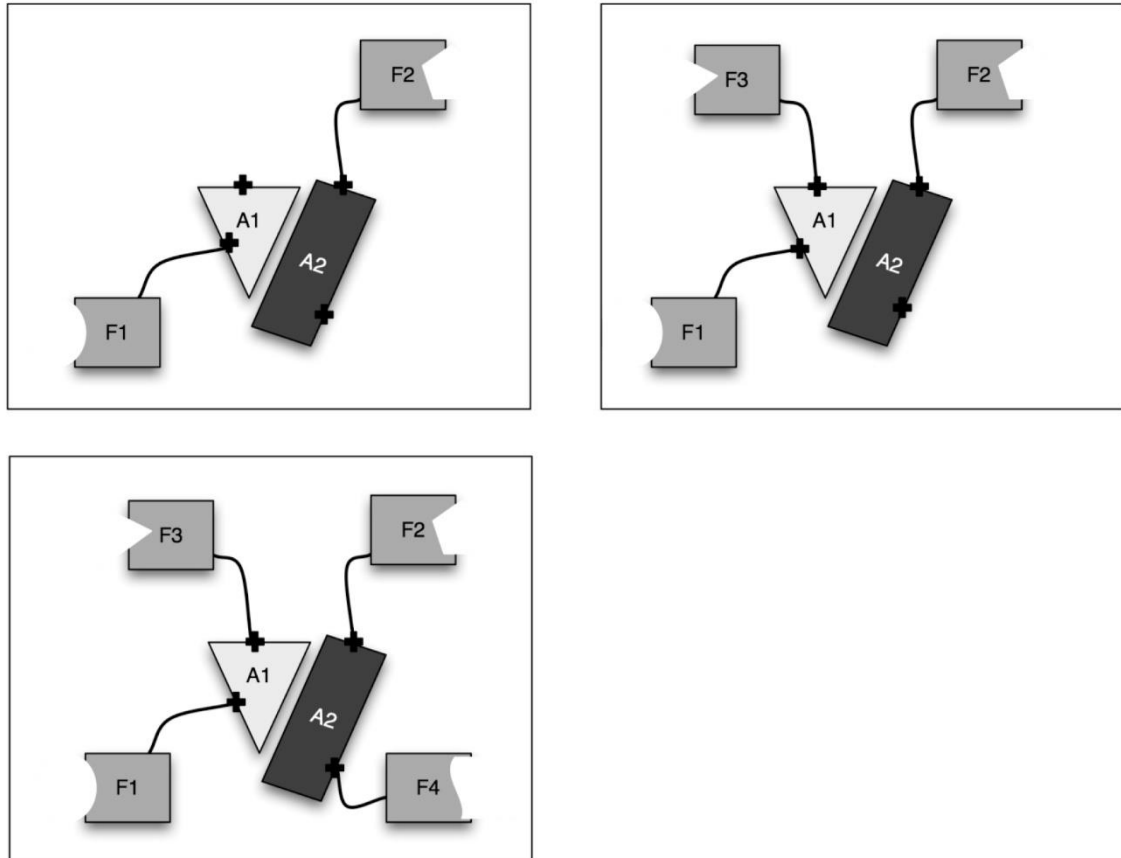


Figura 5

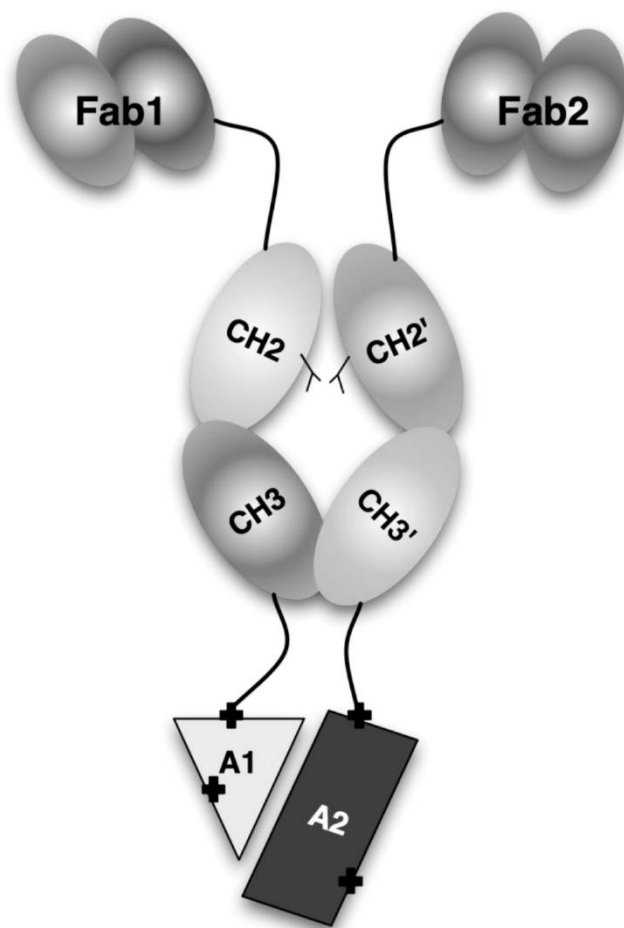


Figura 6A

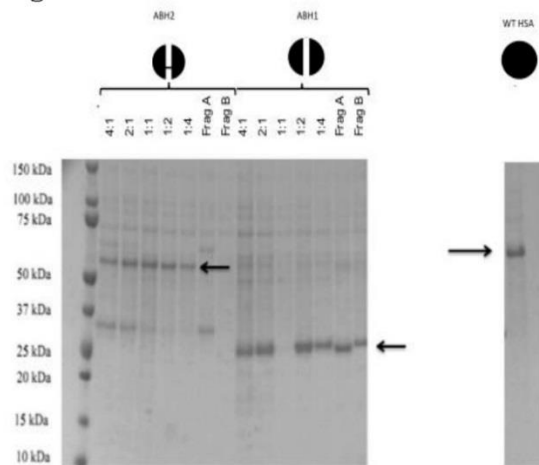


Figura 6B

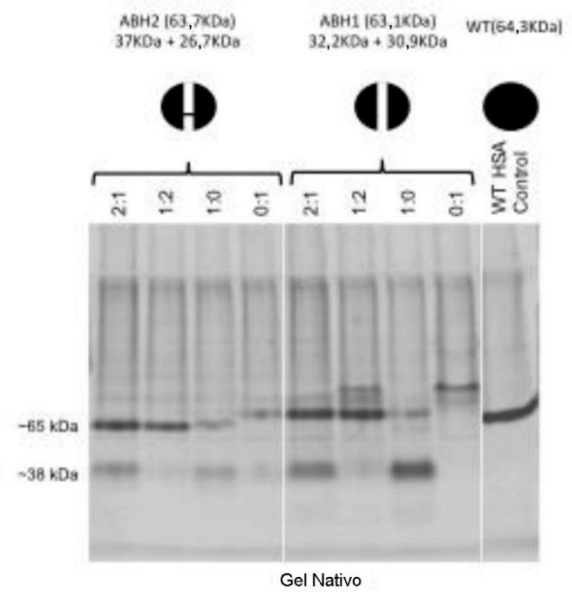


Figura 6C

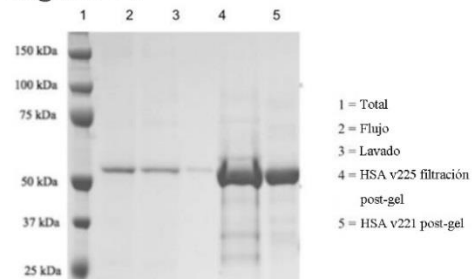


Figura 7

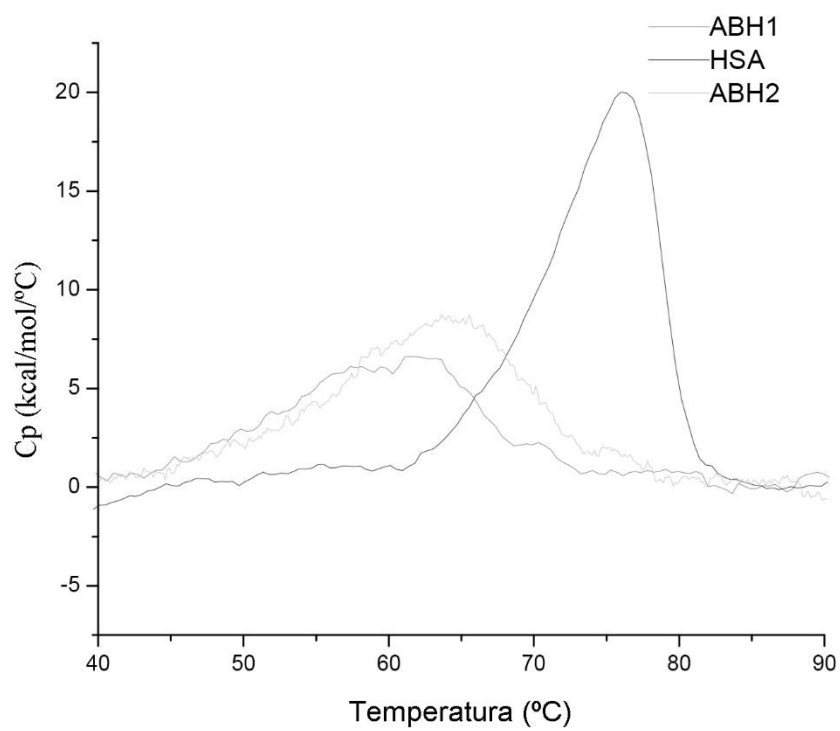


Figura 8A

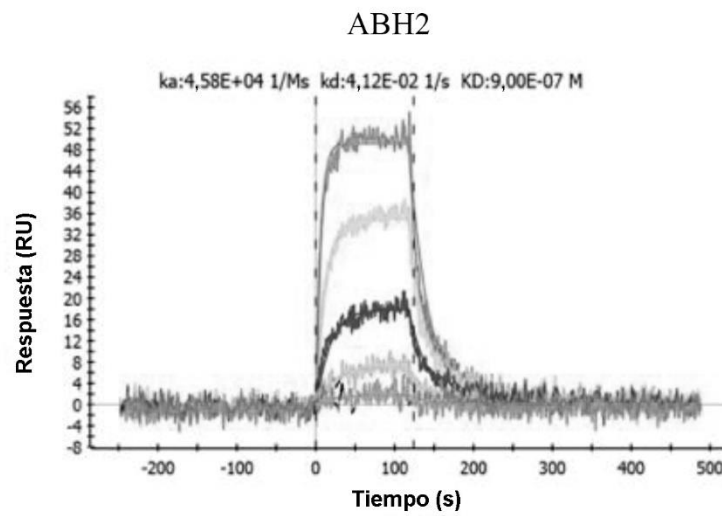


Figura 8B

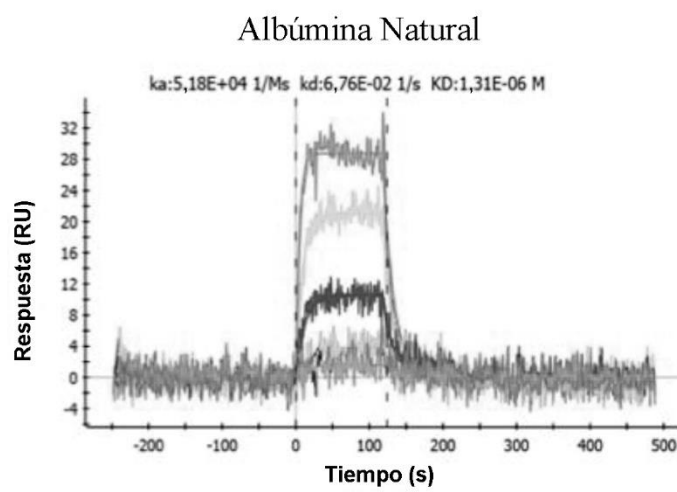


Figura 9

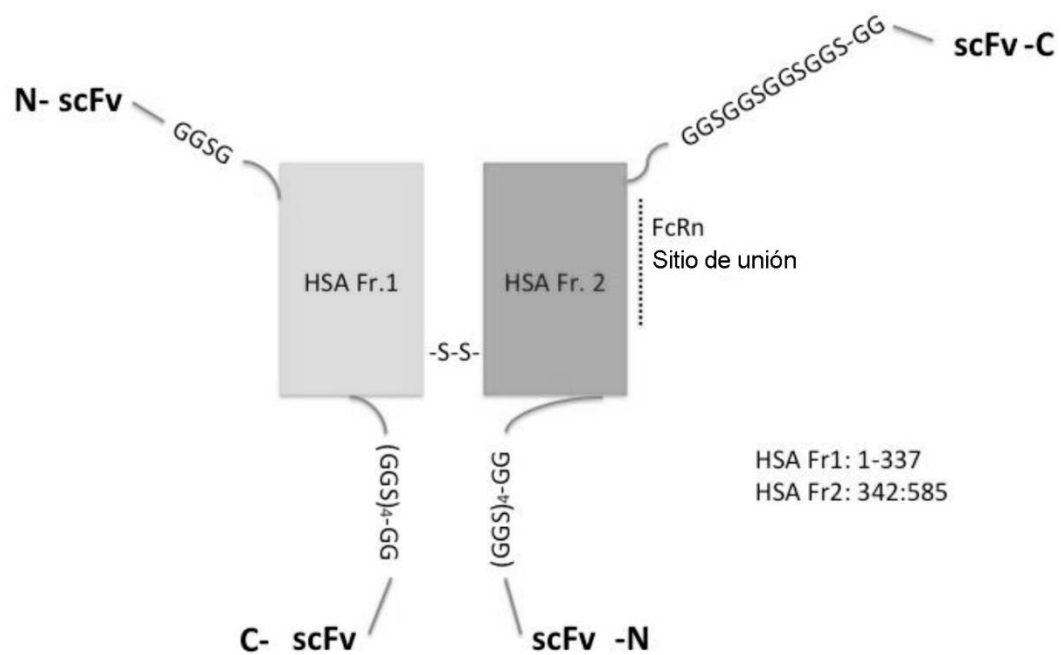


Figura 10A

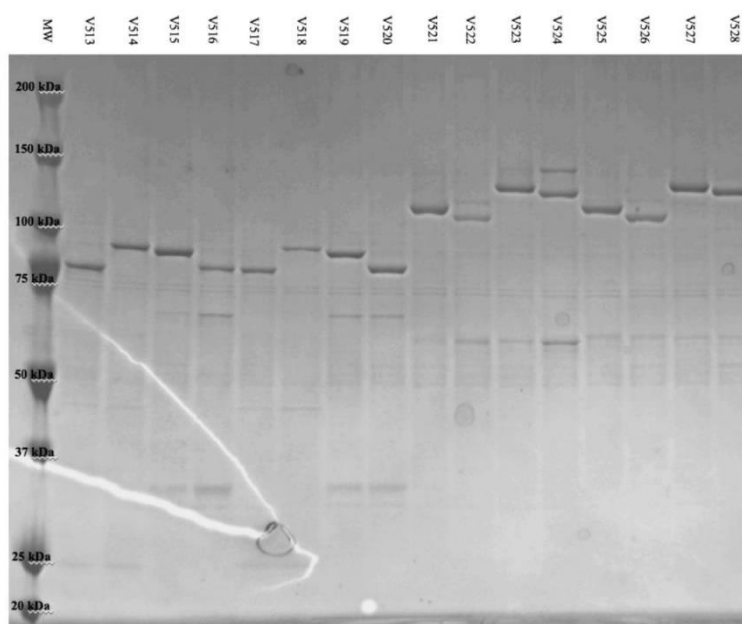


Figura 10B

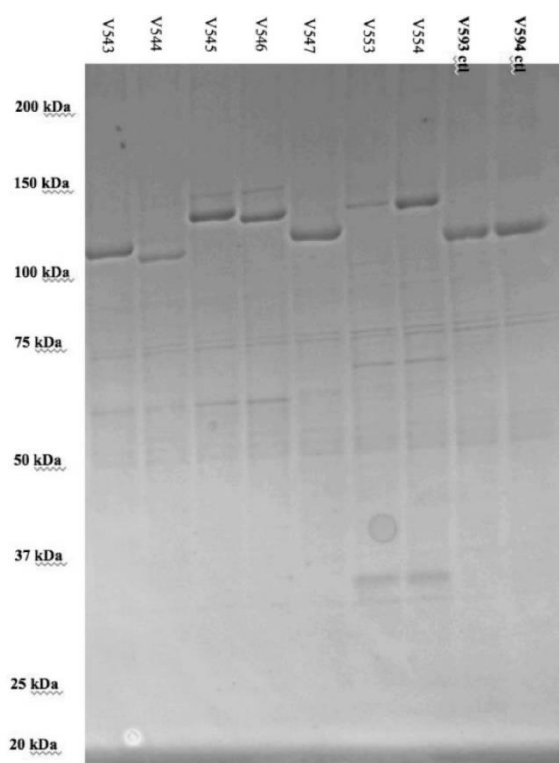
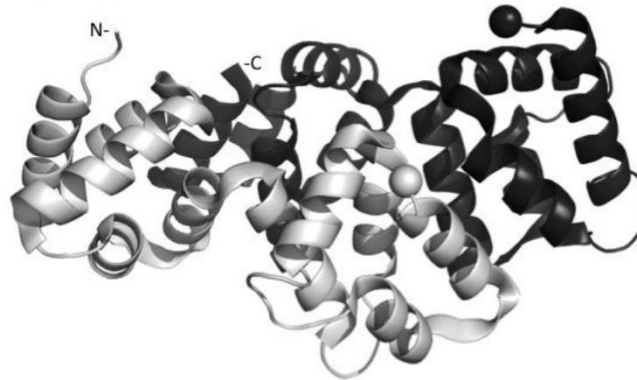


Figura 11

Anexina A1 (PDB-ID: 1MCX)



Polipéptido transportador basado en anexina 1: residuos 41-186 (gris)

Polipéptido transportador basado en anexina 2: residuos 194-344 (negro)

Figura 12

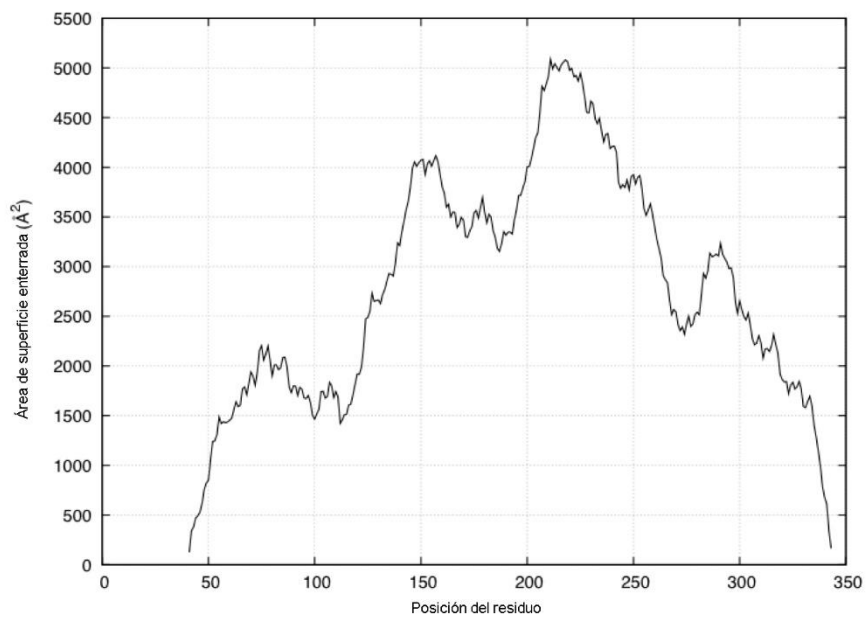


Figura 13

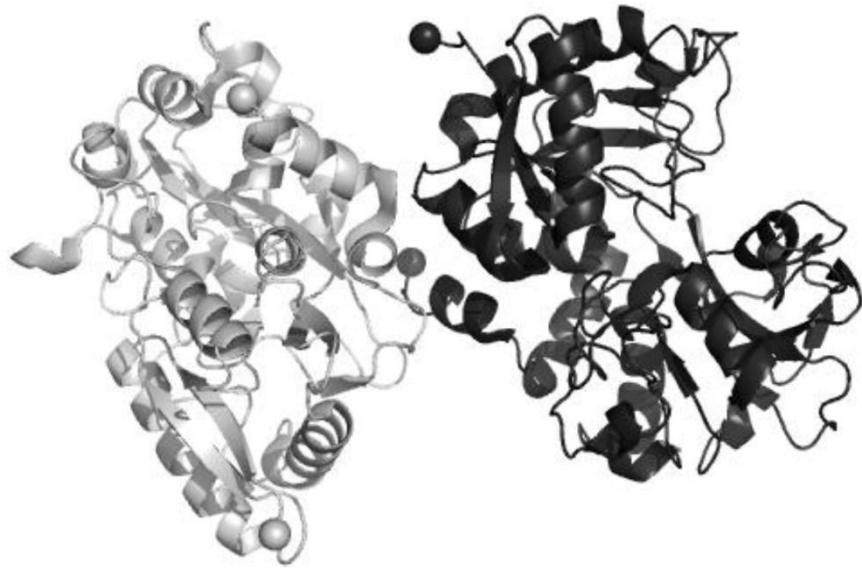
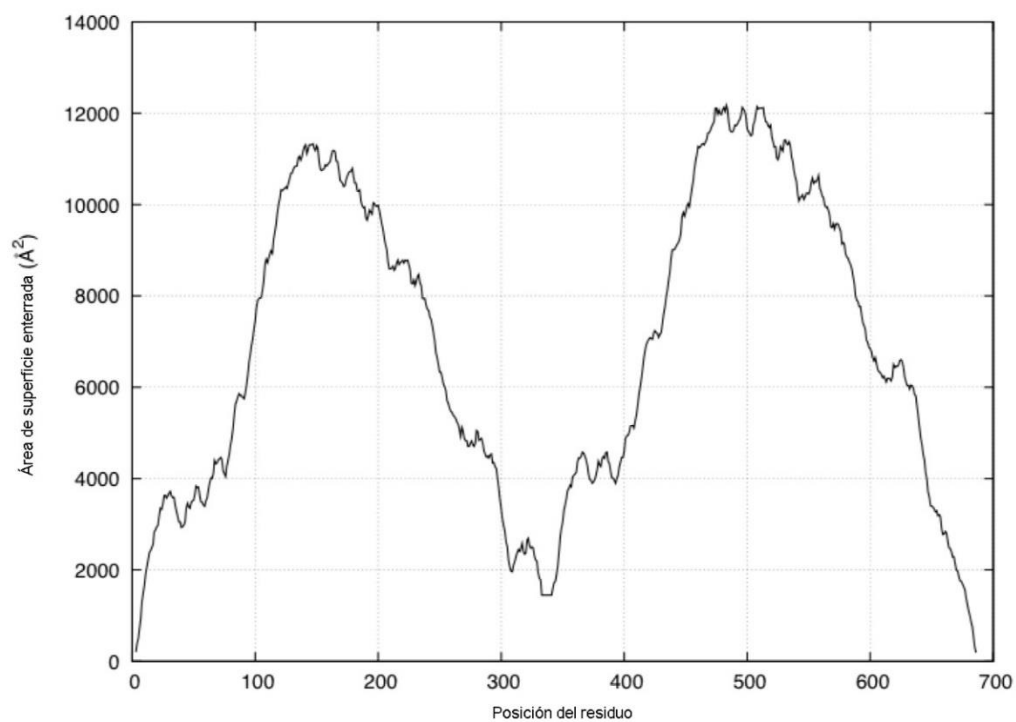


Figura 14



AlbuCORE_1

AlbuCORE_2

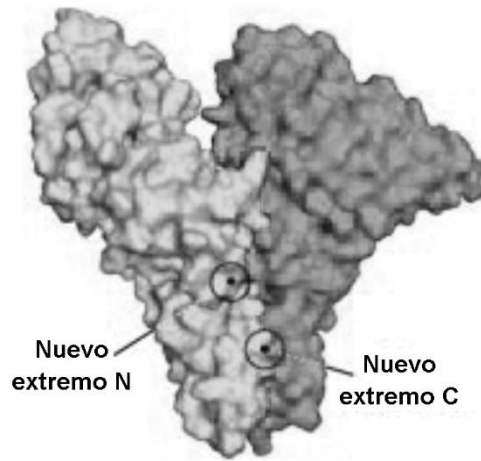


Figura 15A

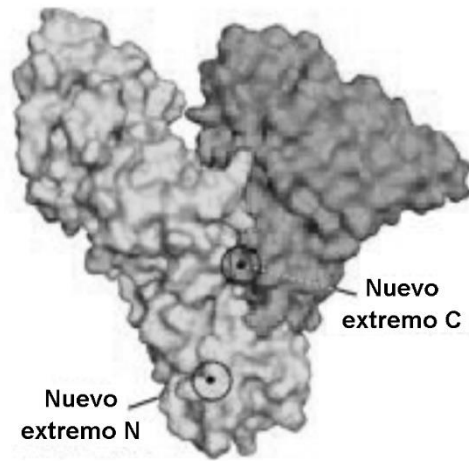


Figura 15C



Figura 15B

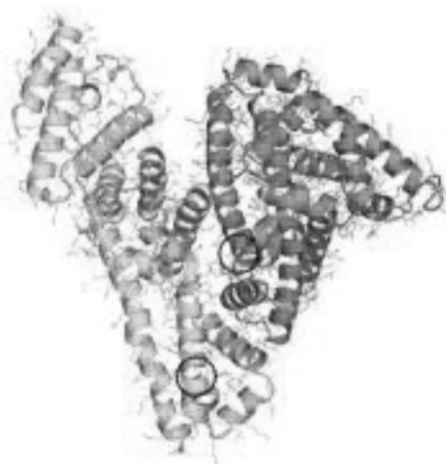


Figura 15D

AlbuCORE_3

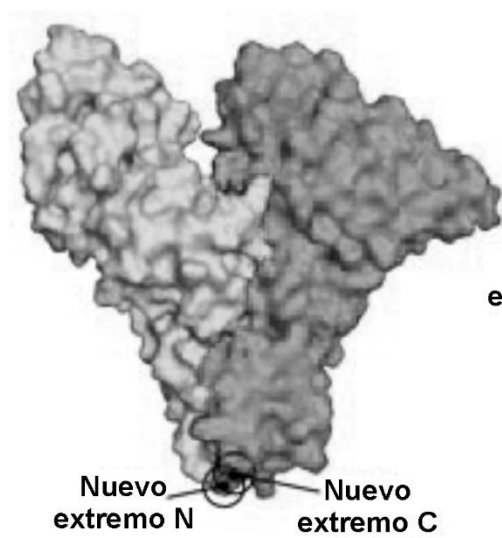


Figura 15E

AlbuCORE_4

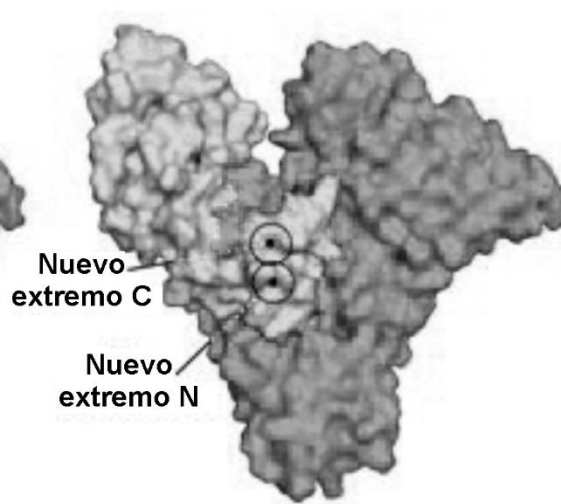


Figura 15G



Figura 15F



Figura 15H

AlbuCORE_6

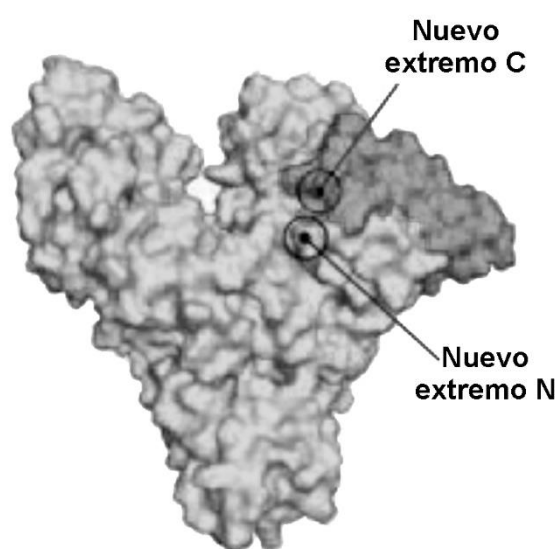


Figura 15I

AlbuCORE_7

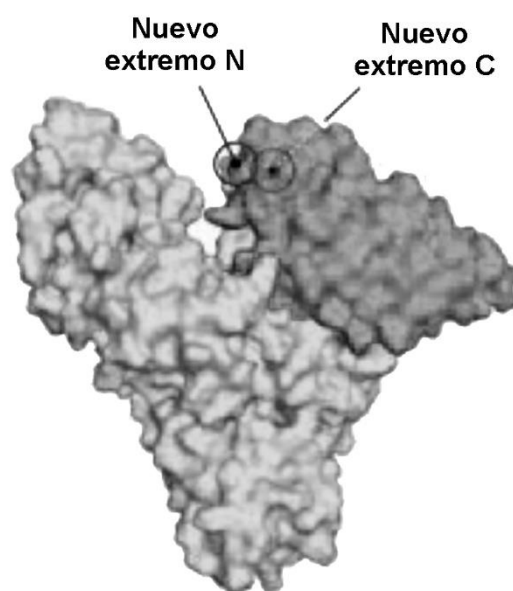


Figura 15K



Figura 15J



Figura 15L

AlbuCORE_9

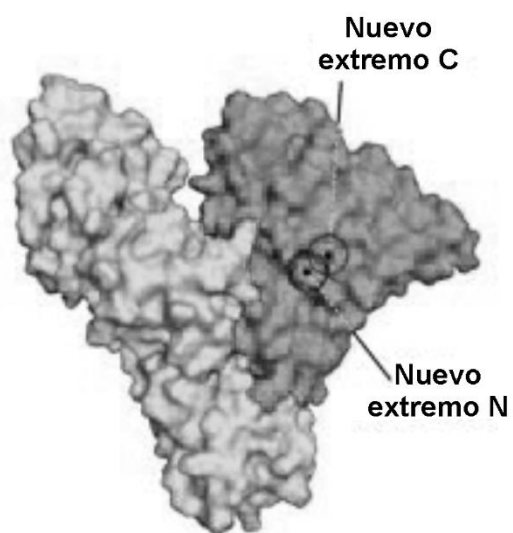


Figura 15M

AlbuCORE_13

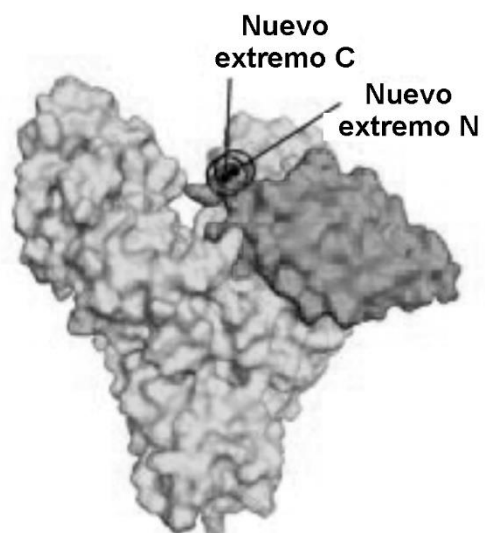


Figura 15O

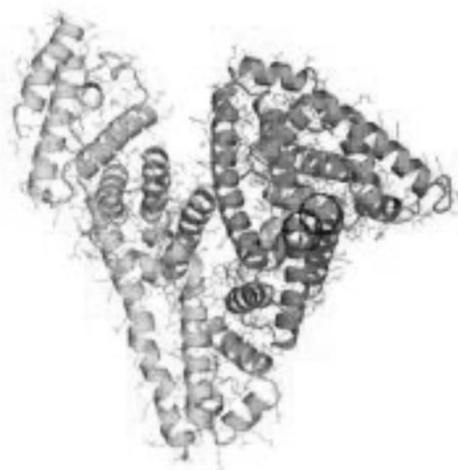


Figura 15N



Figura 15P

Figura 16A

ABH2

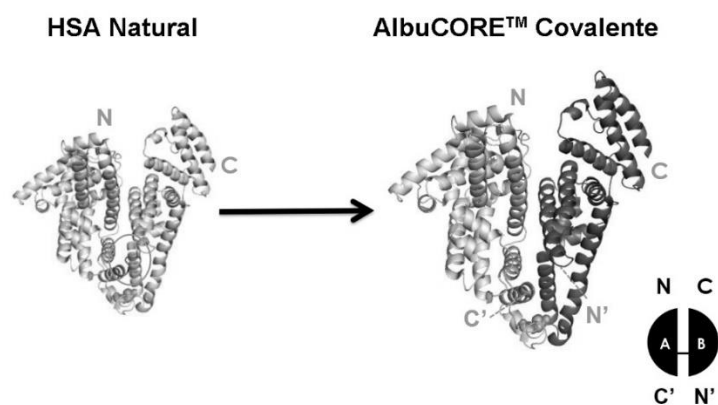


Figura 16B
ABH1

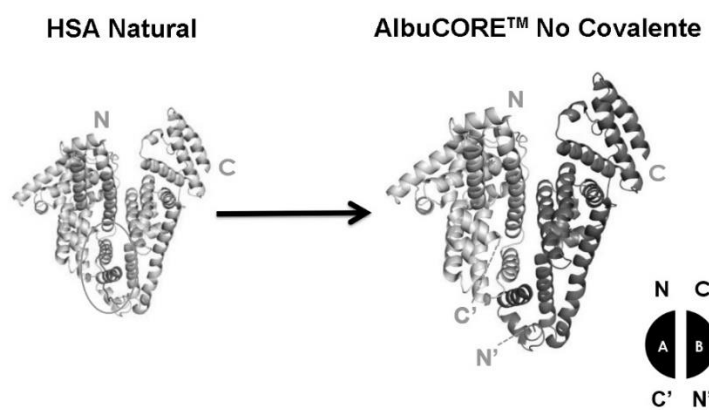


Figura 17

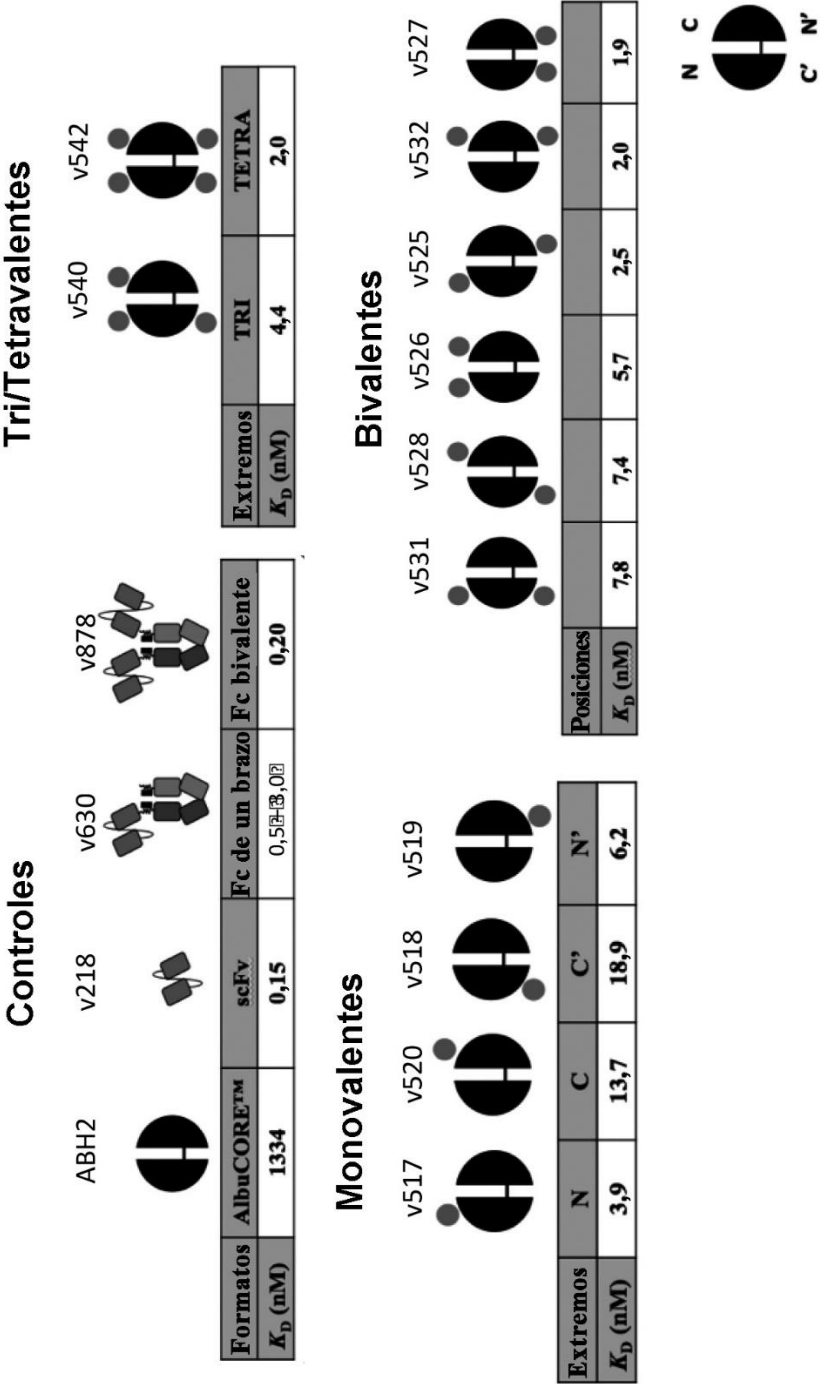


Figura 18A

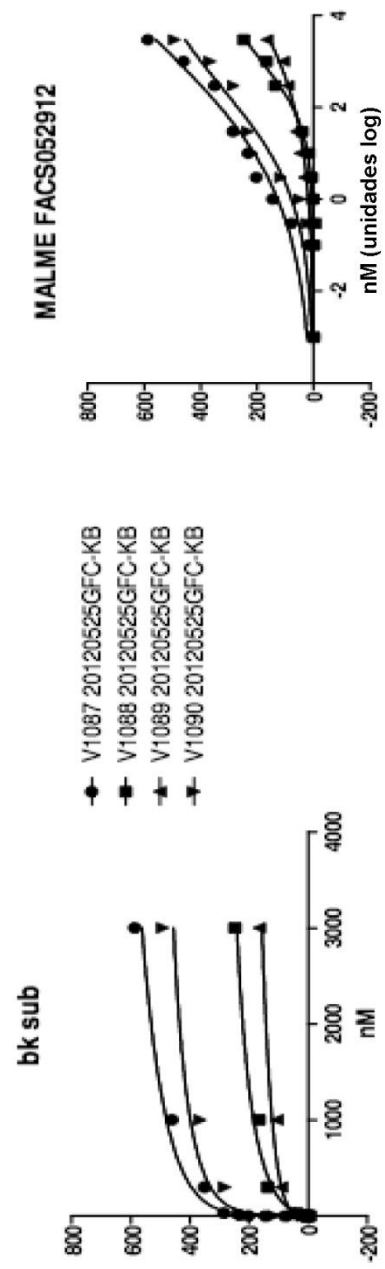
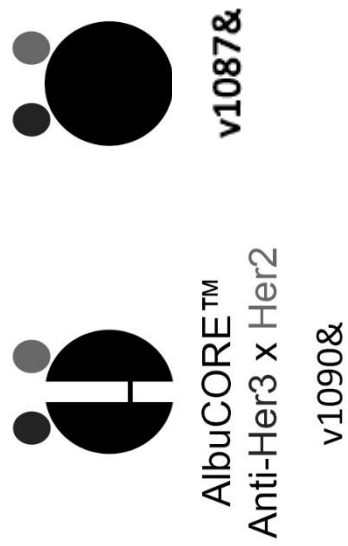


Figura 18B

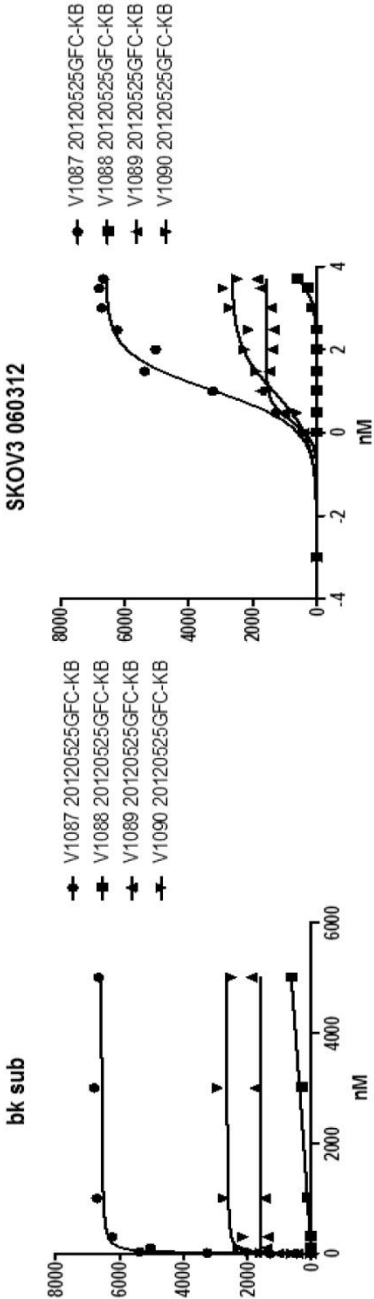
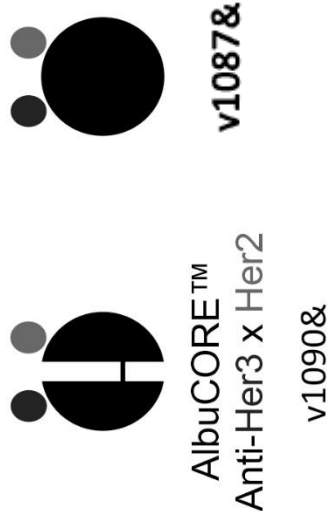


Figura 19A

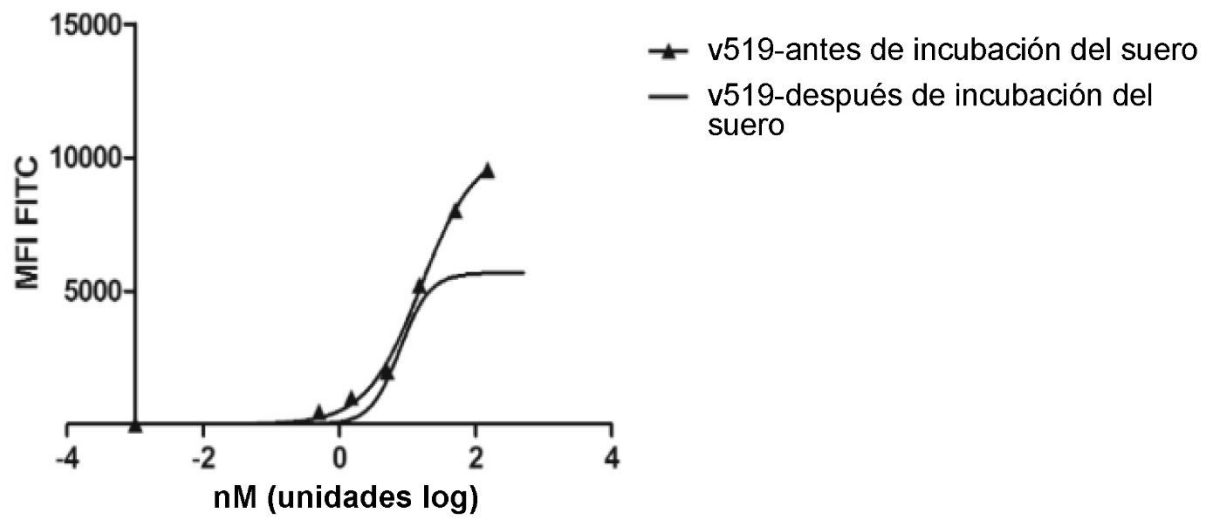


Figura 19B

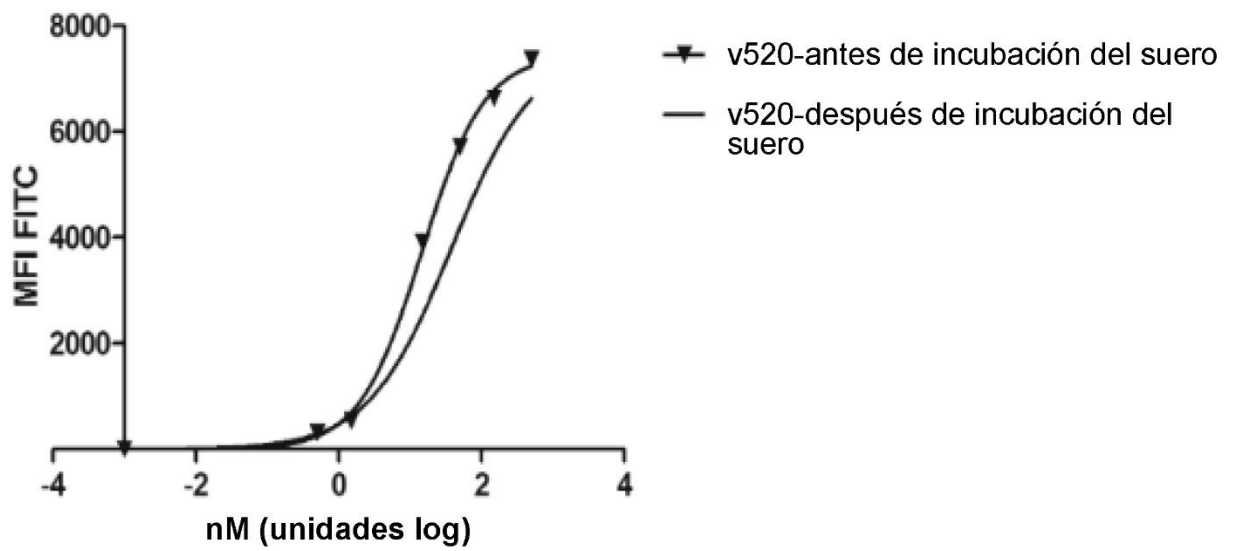


Figura 19C

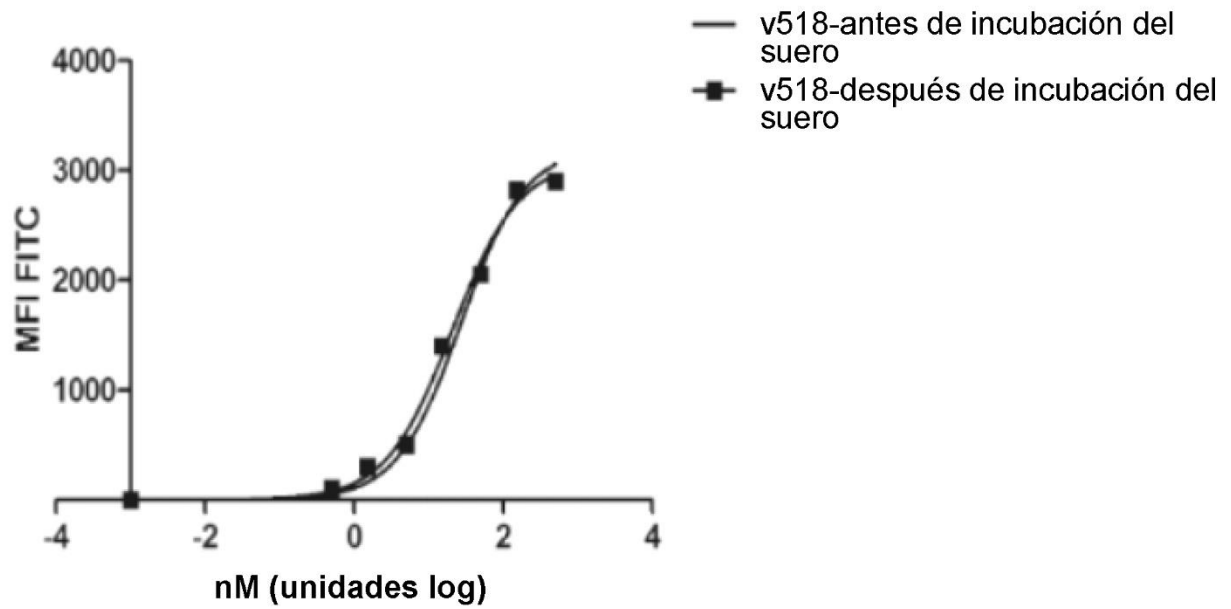


Figura 19D

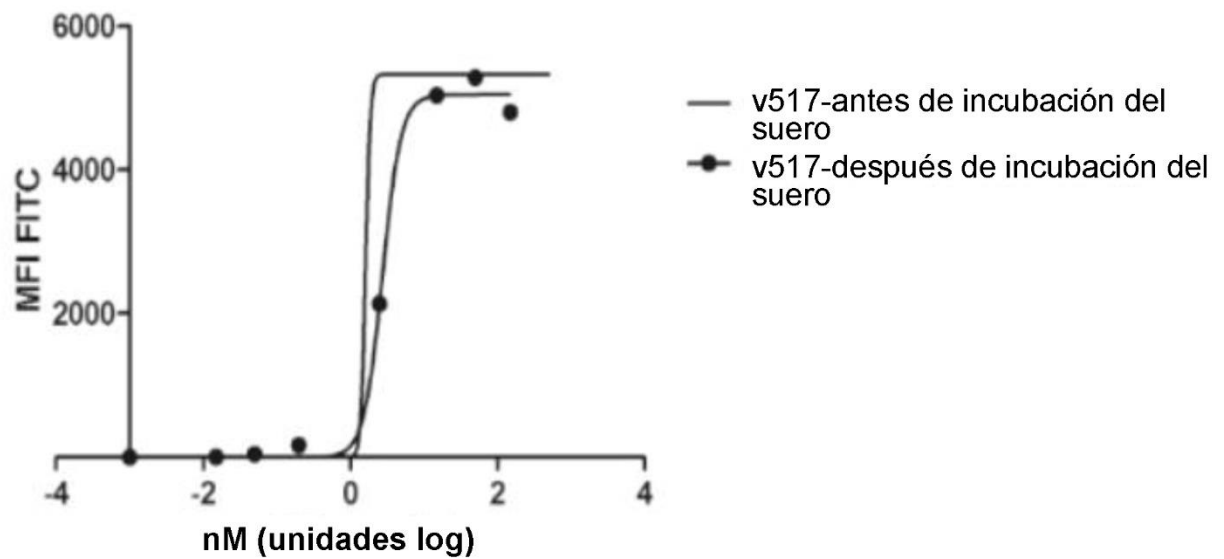


Figura 20A

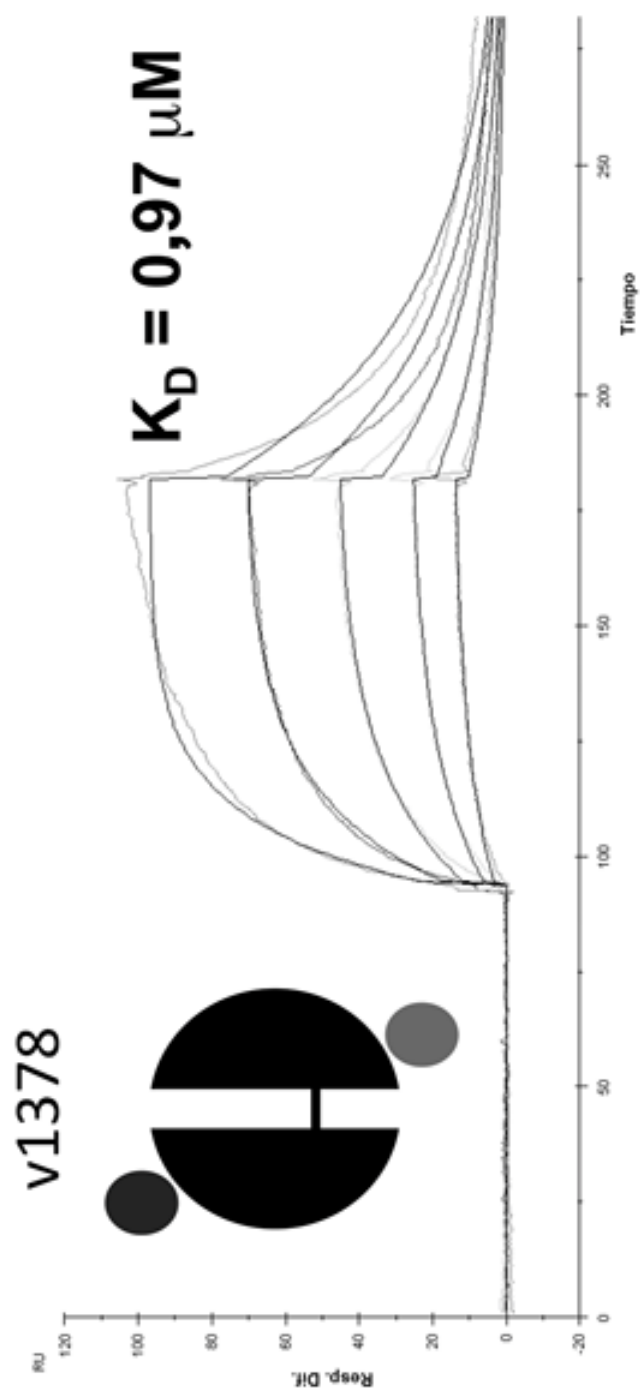


Figura 20B

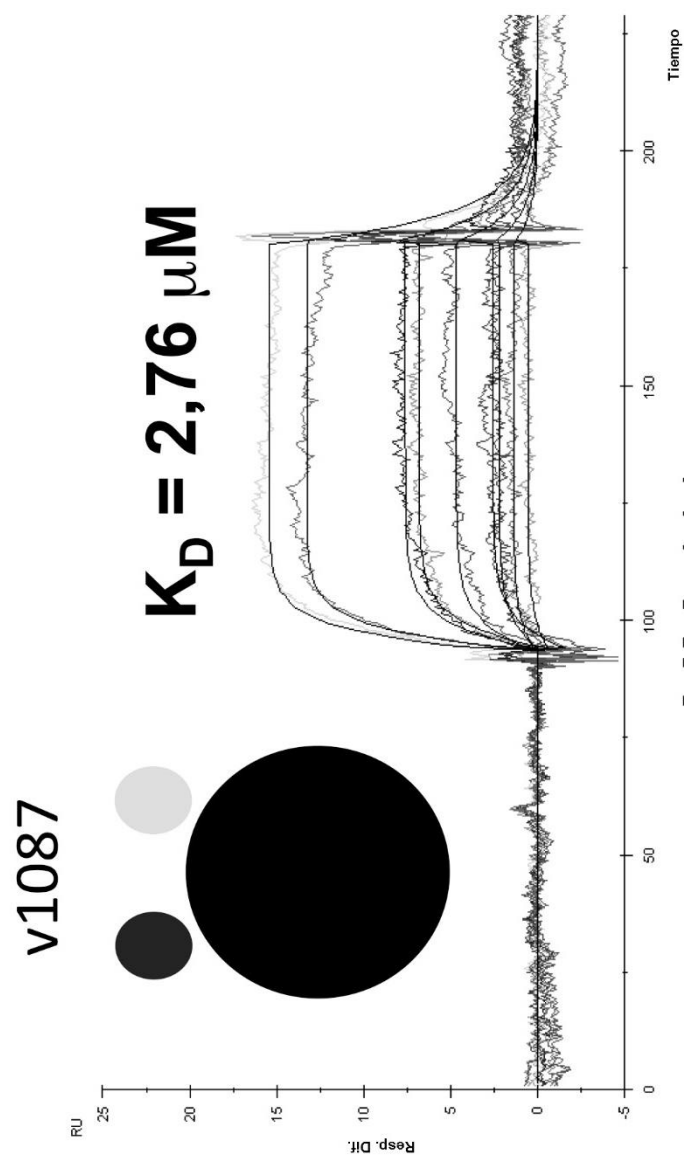


Figura 21

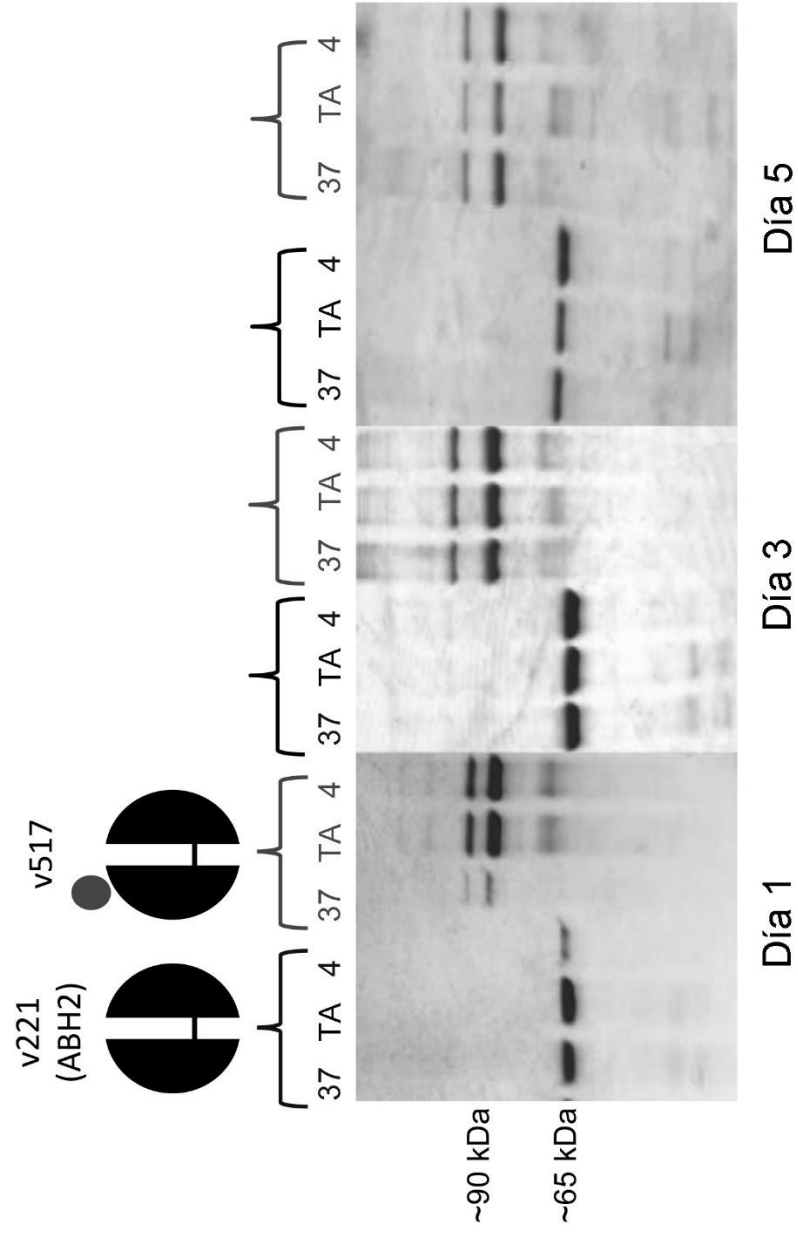


Figura 22A

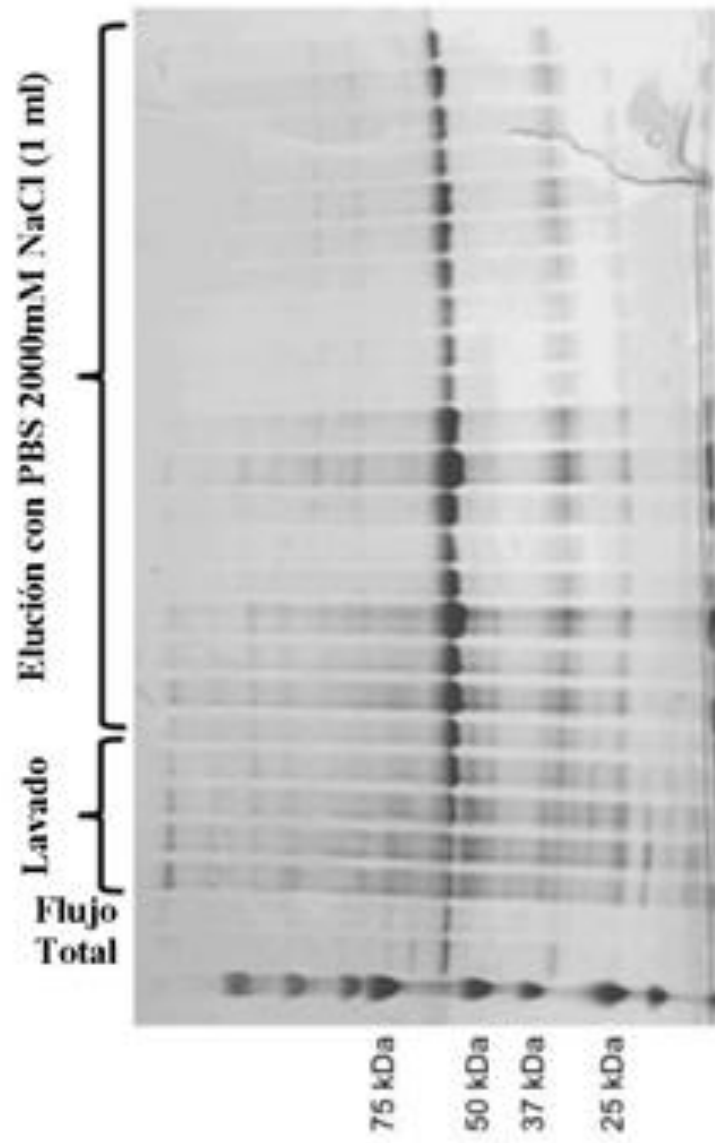


Figura 22B

POST-BLUE SEPHAROSE

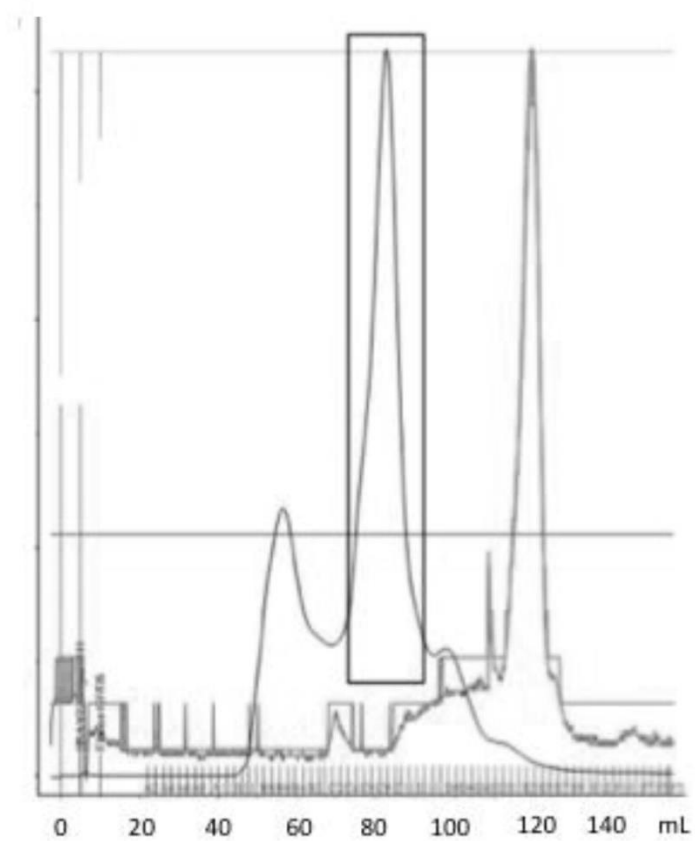
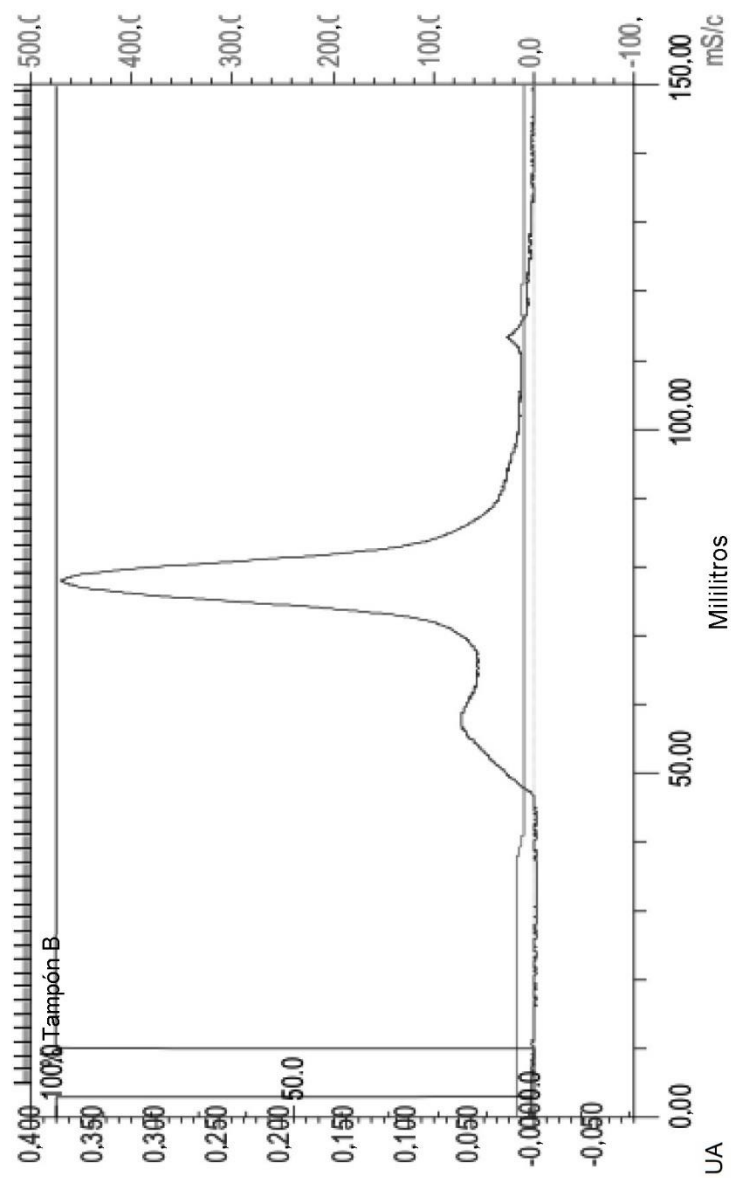


Figura 22C

Post AlbuPure®



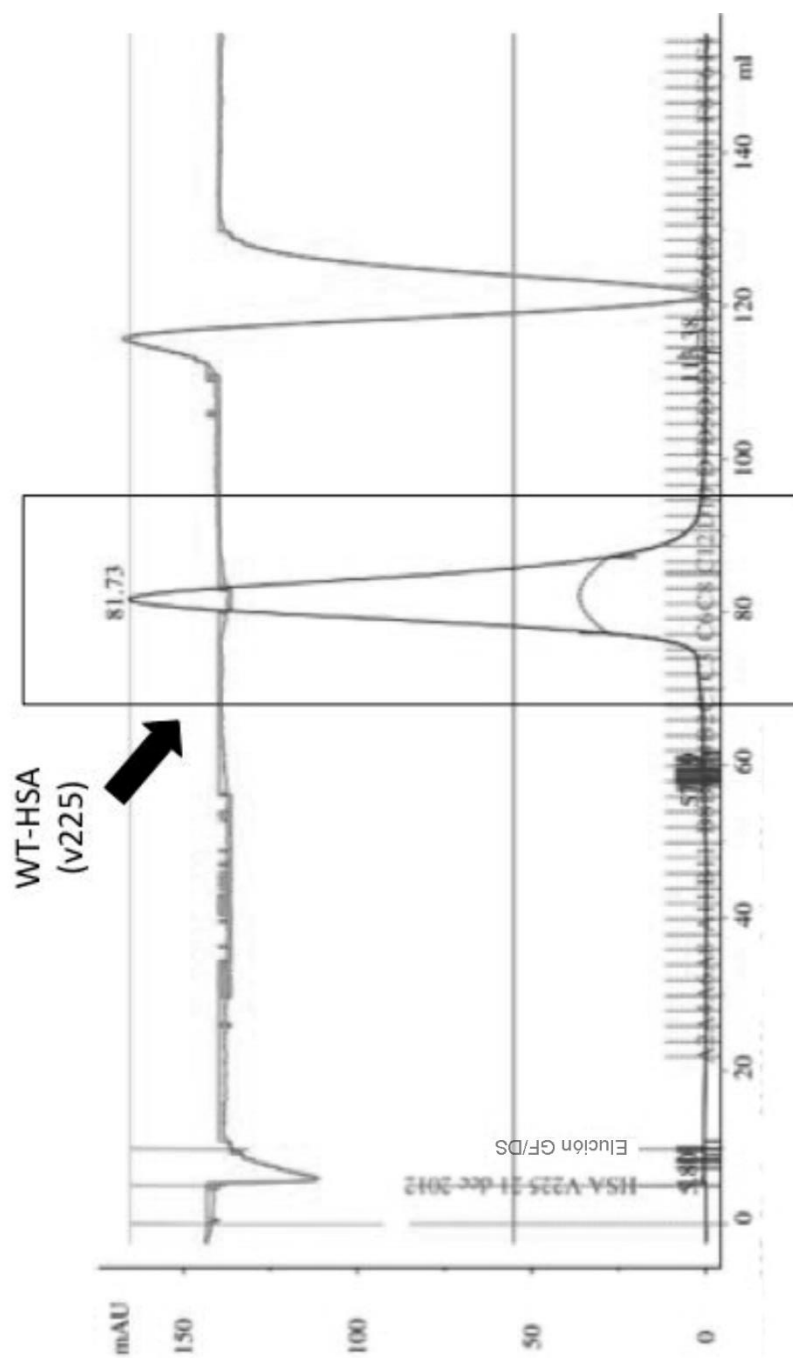


Figura 23A

Figura 23B

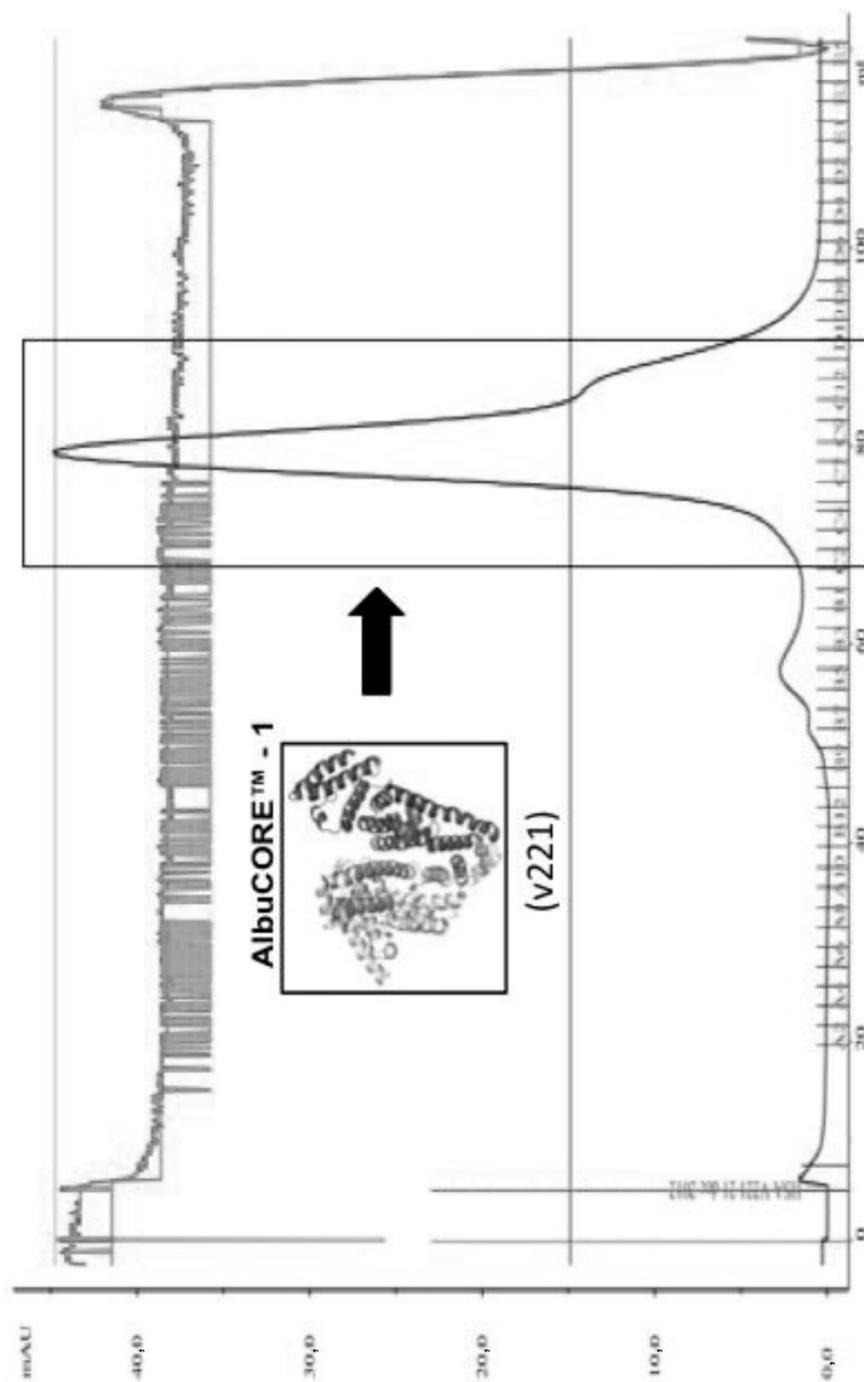


Figura 23C

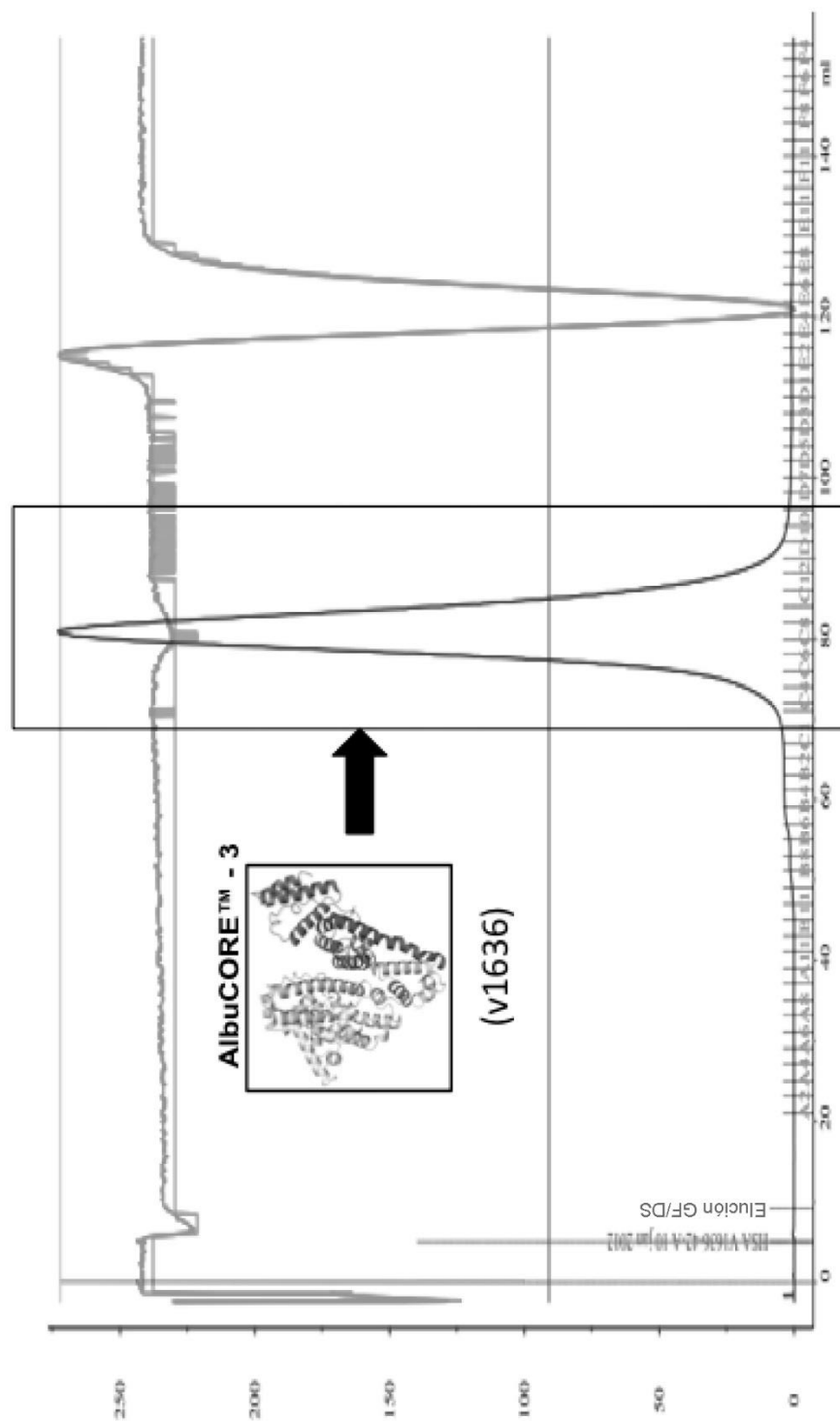


Figura 23D

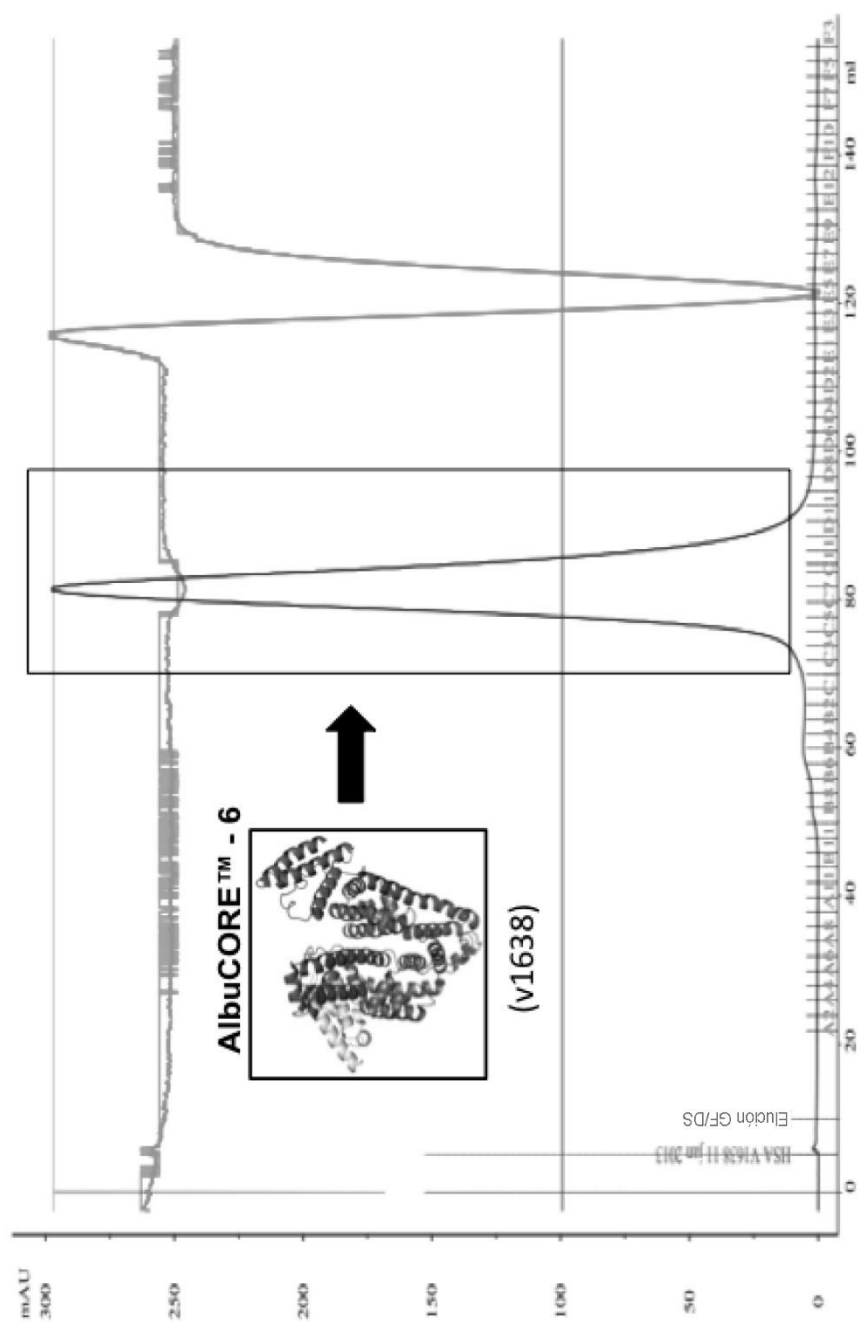


Figura 23E

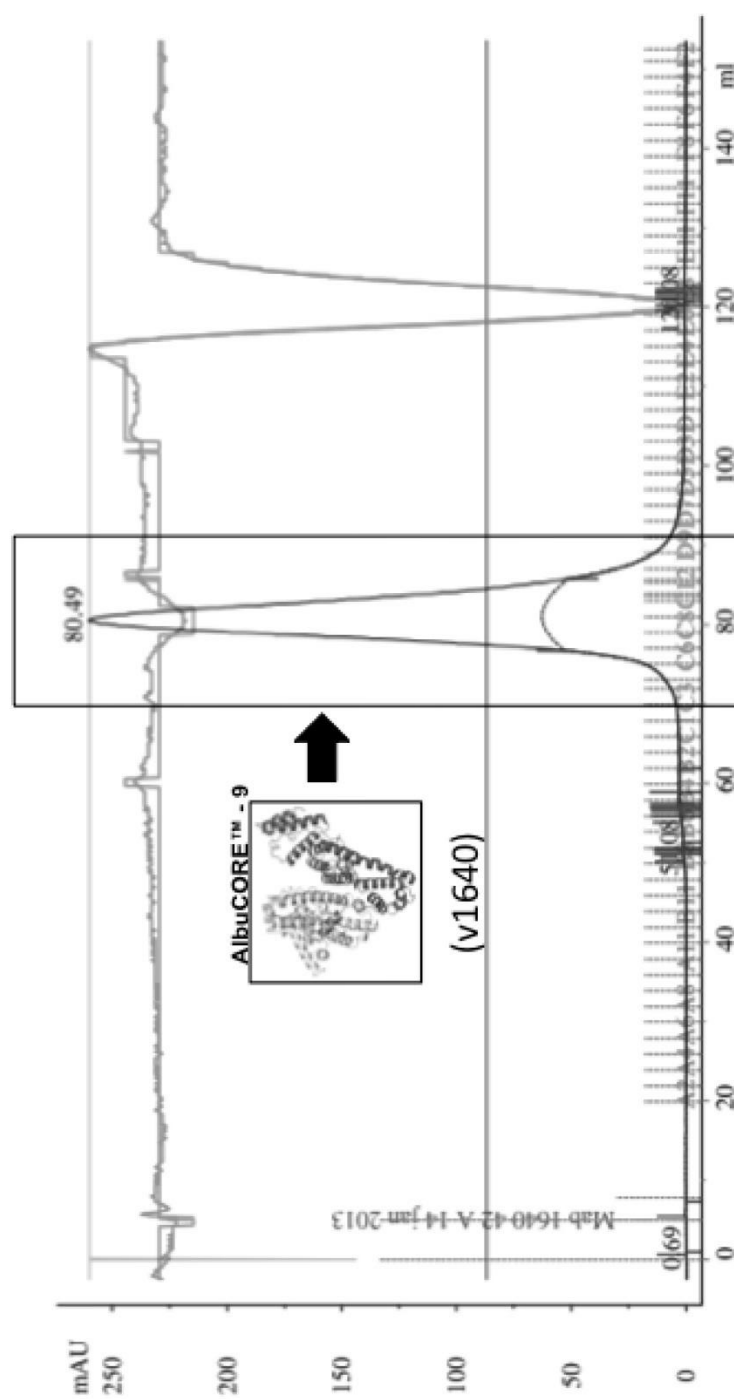


Figura 24A

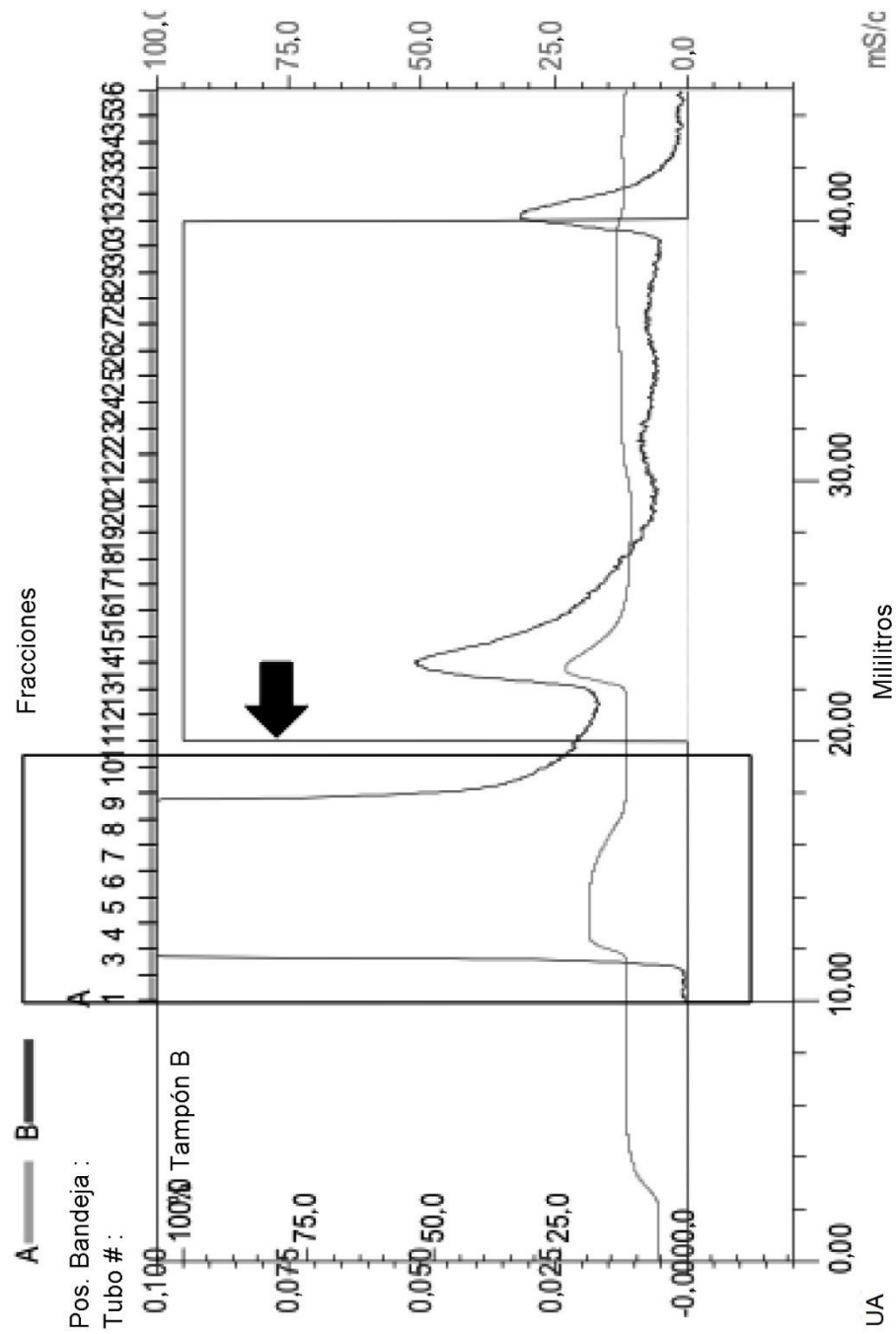


Figura 24B

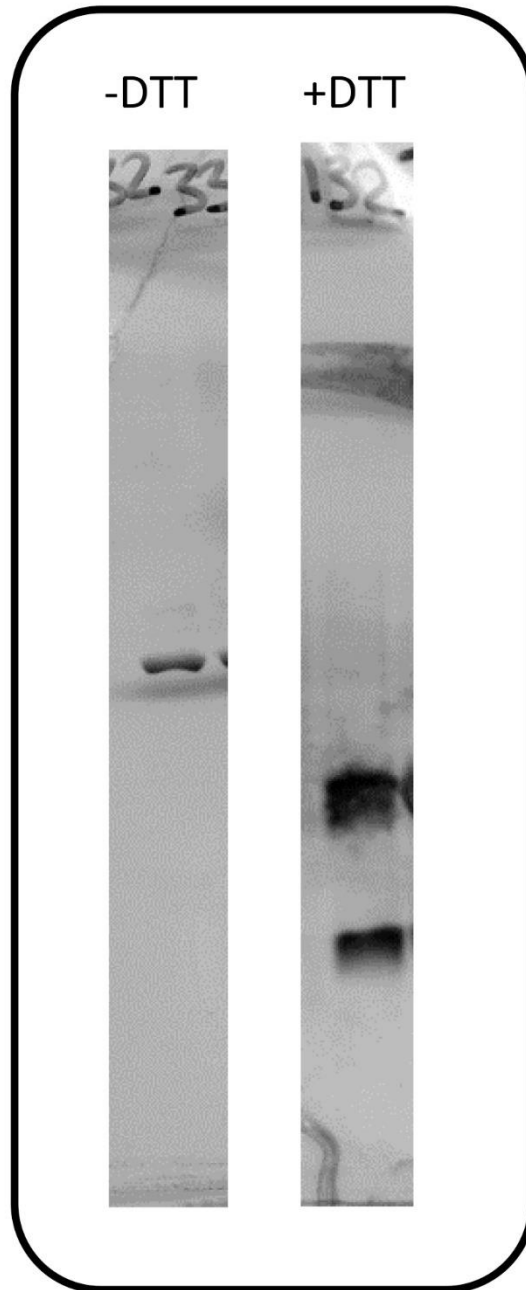


Figura 25A

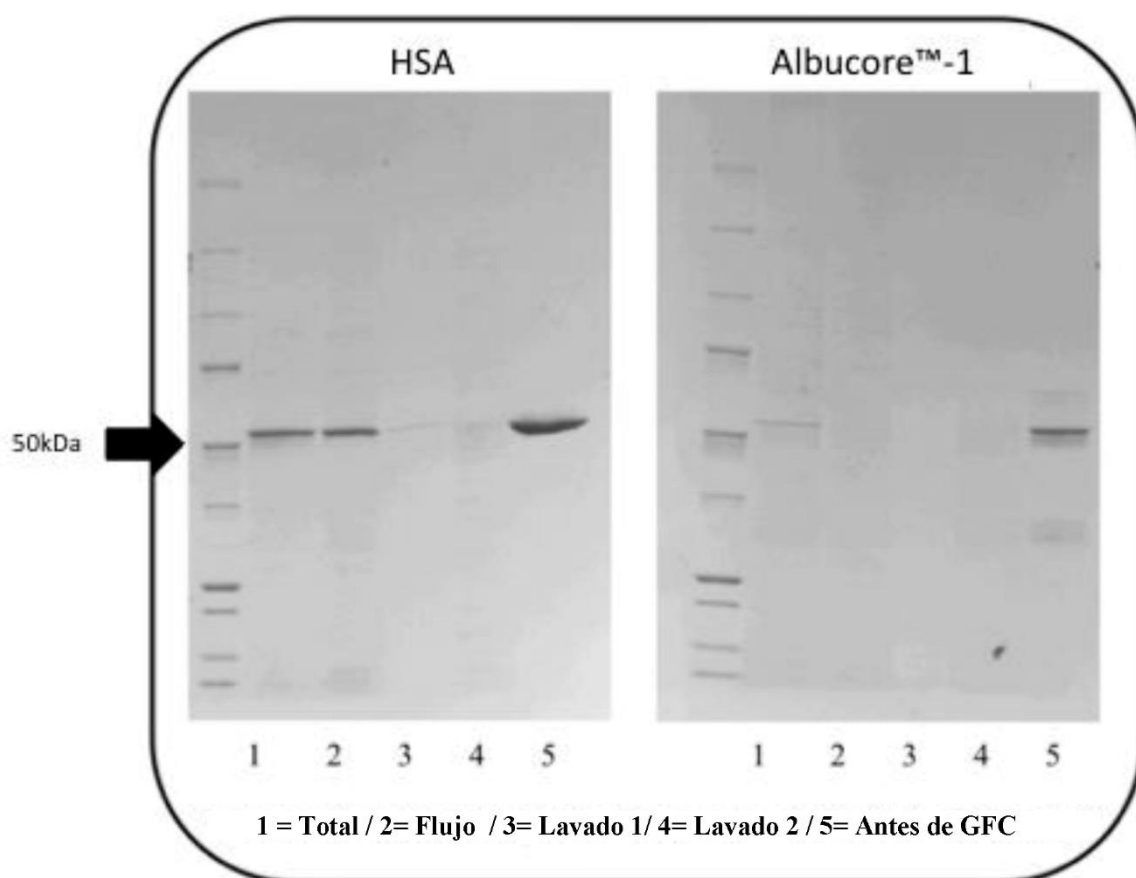


Figura 25B

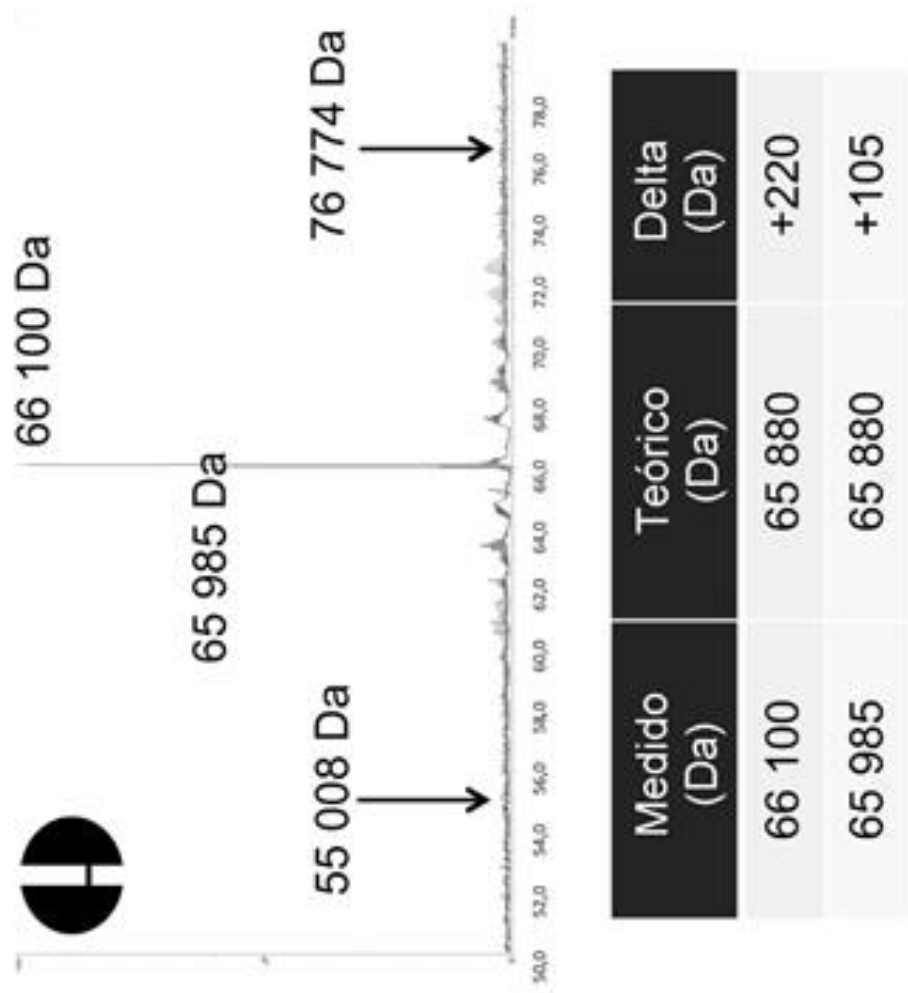


Figura 25B cont.

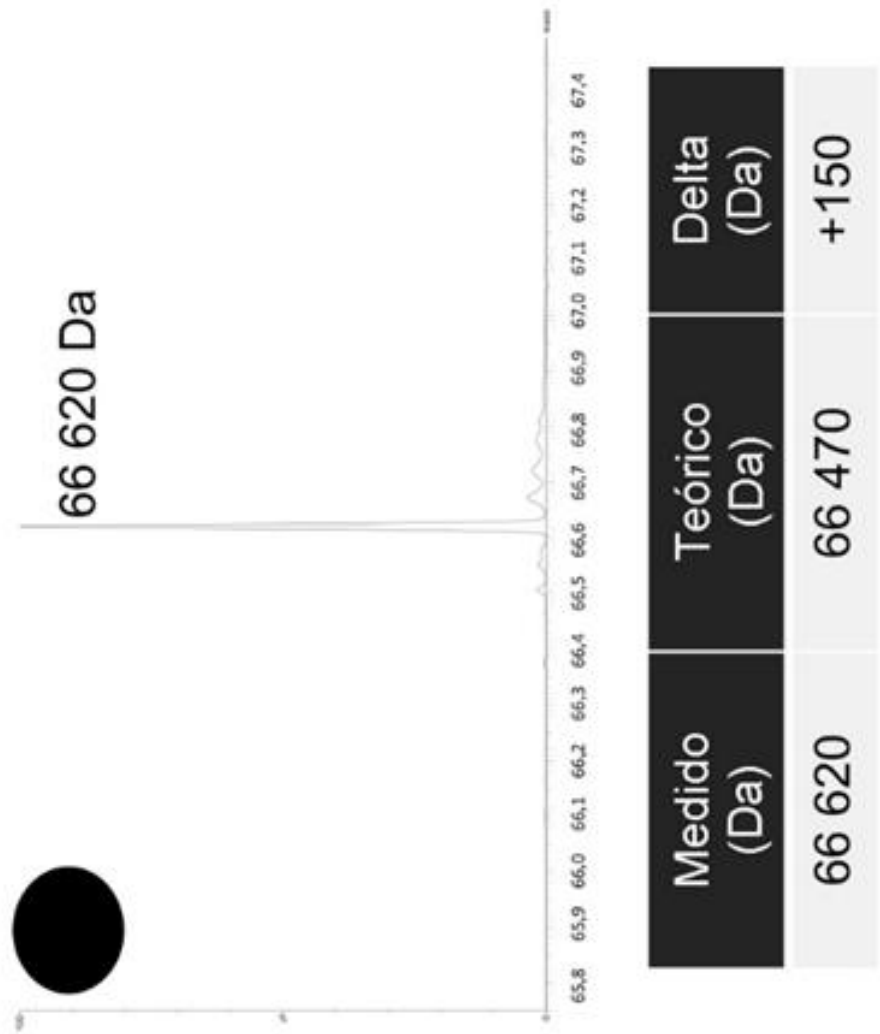


Figura 26A

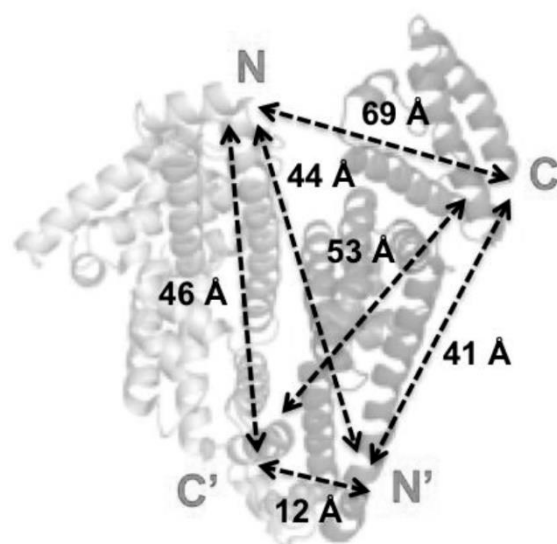


Figura 26B

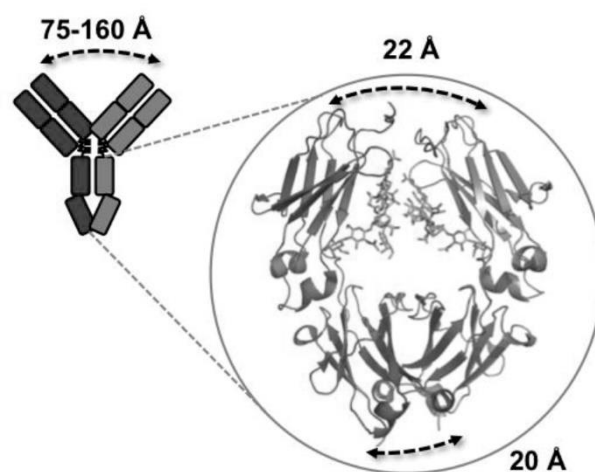


Figura 26C



Figura 27

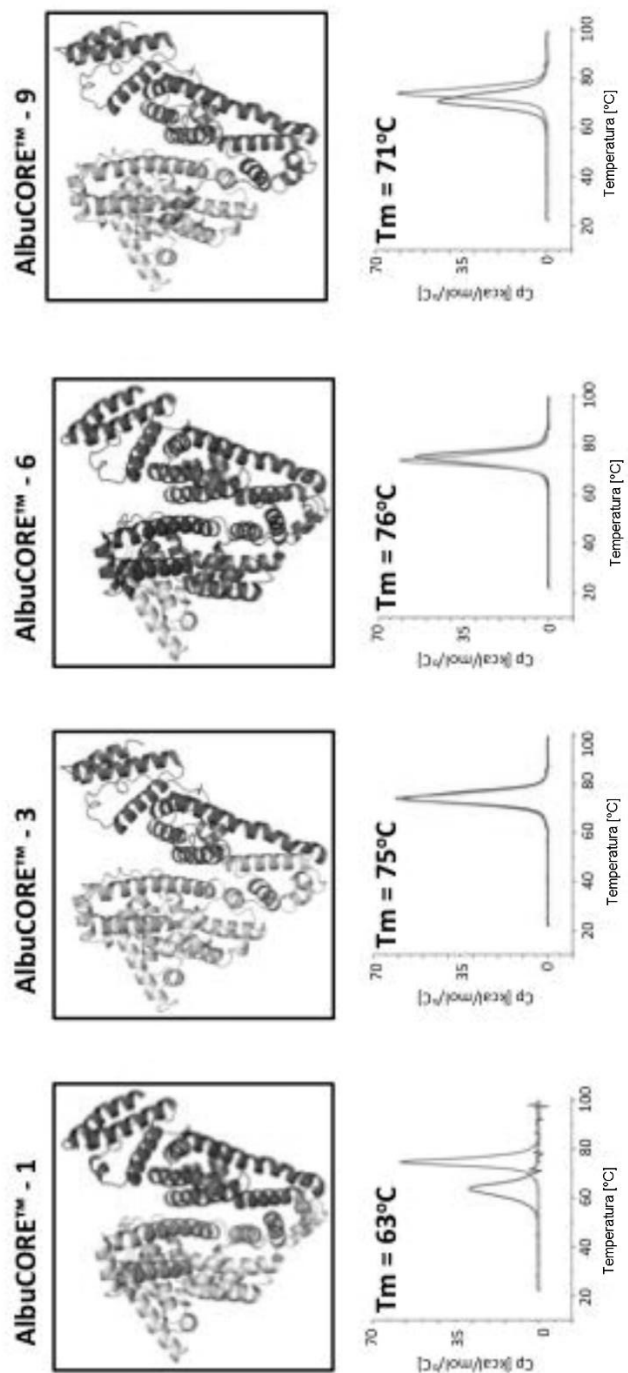


Figura 28A

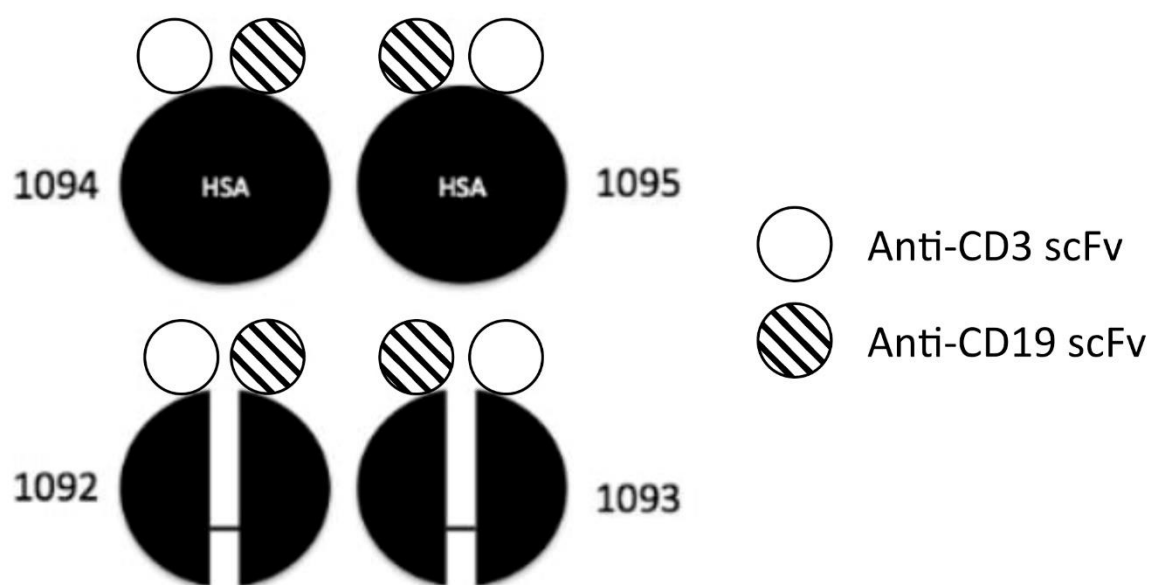


Figura 28B

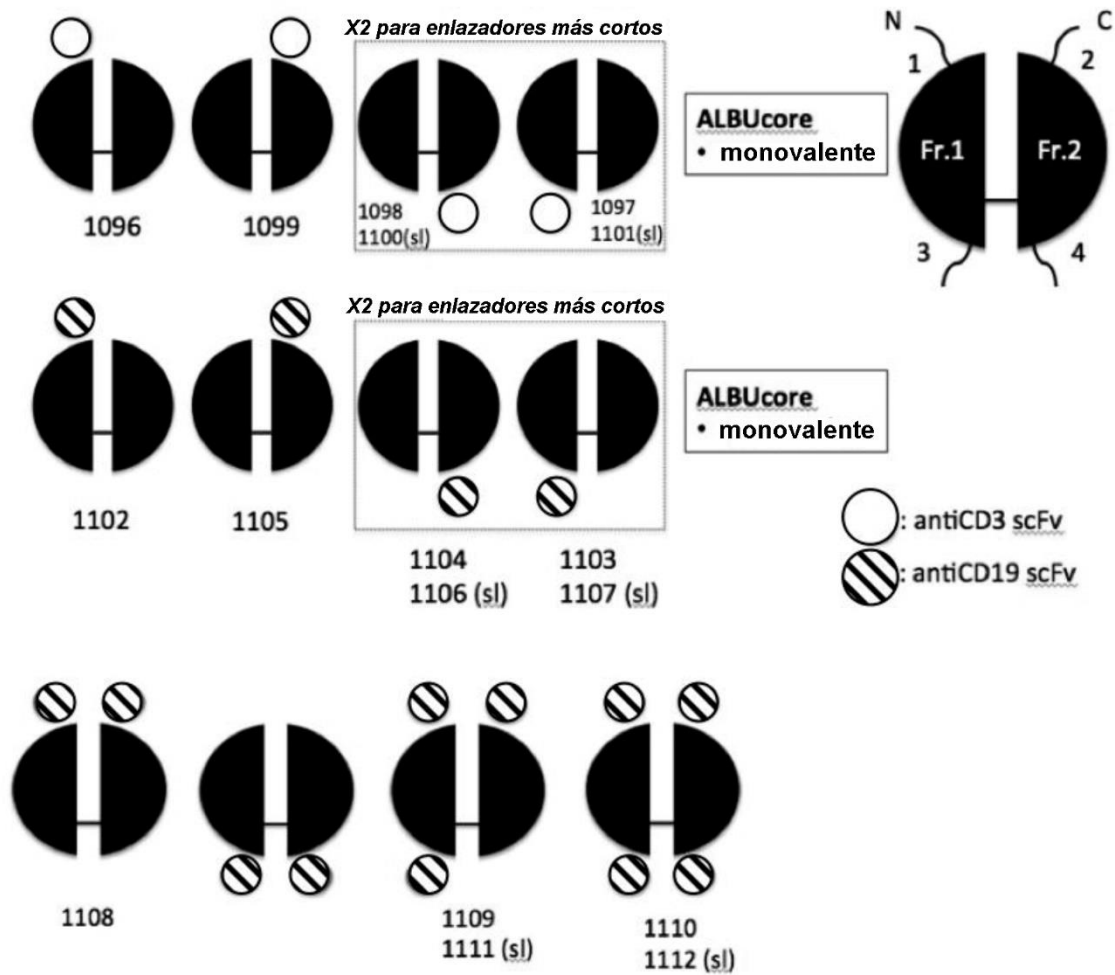


Figura 28C

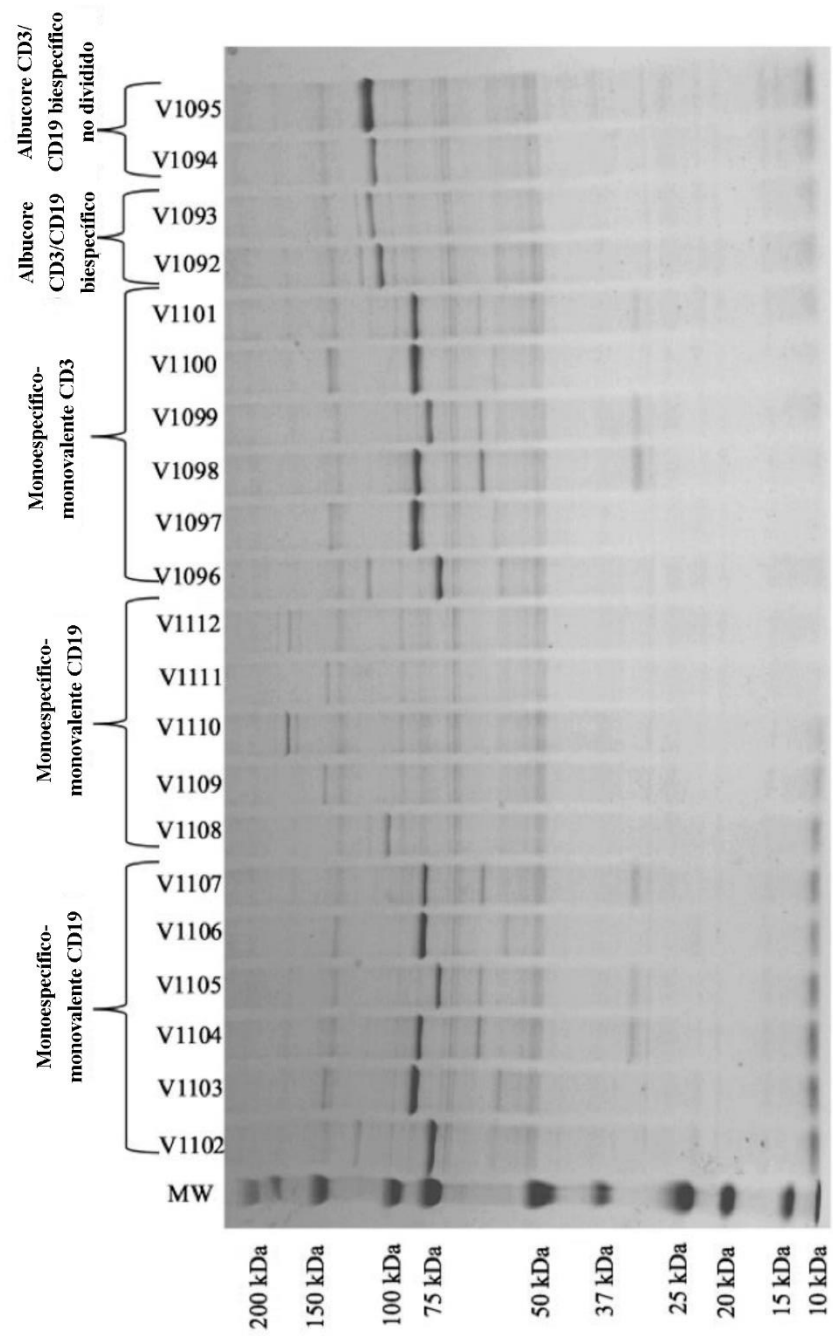


Figura 29

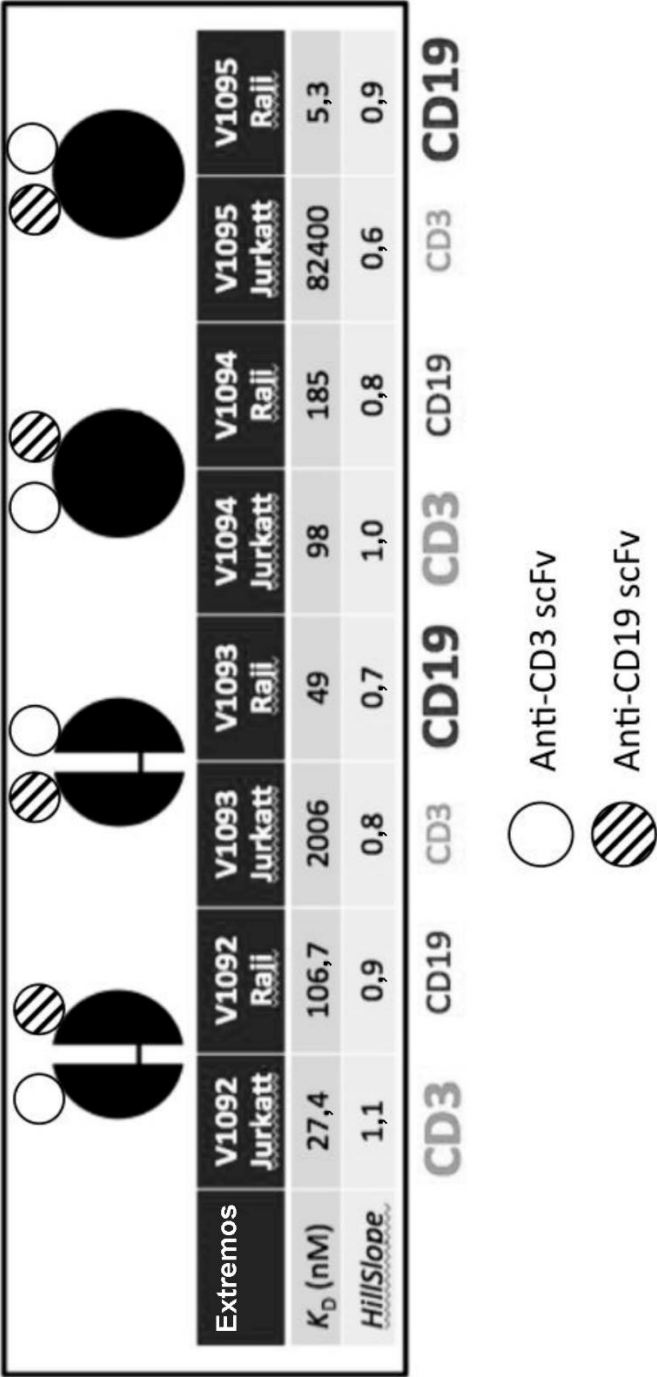
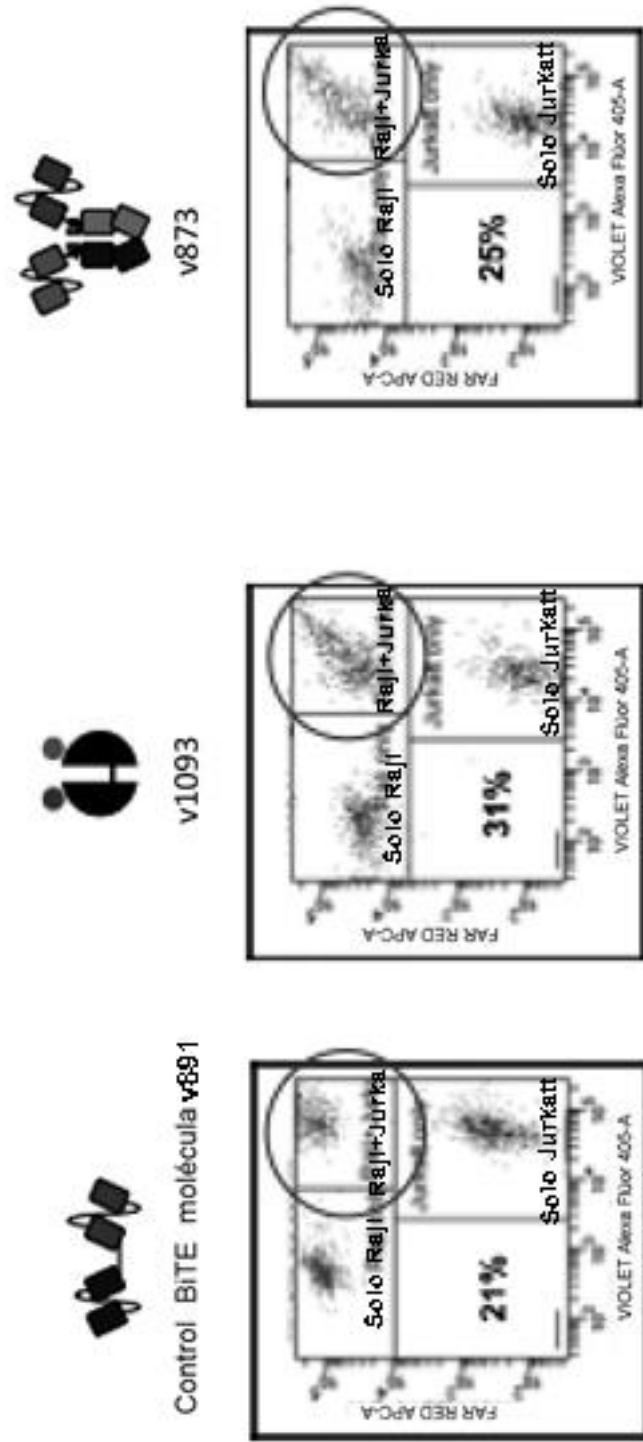


Figura 30A



Anti-CD19 x CD3

Figura 30B

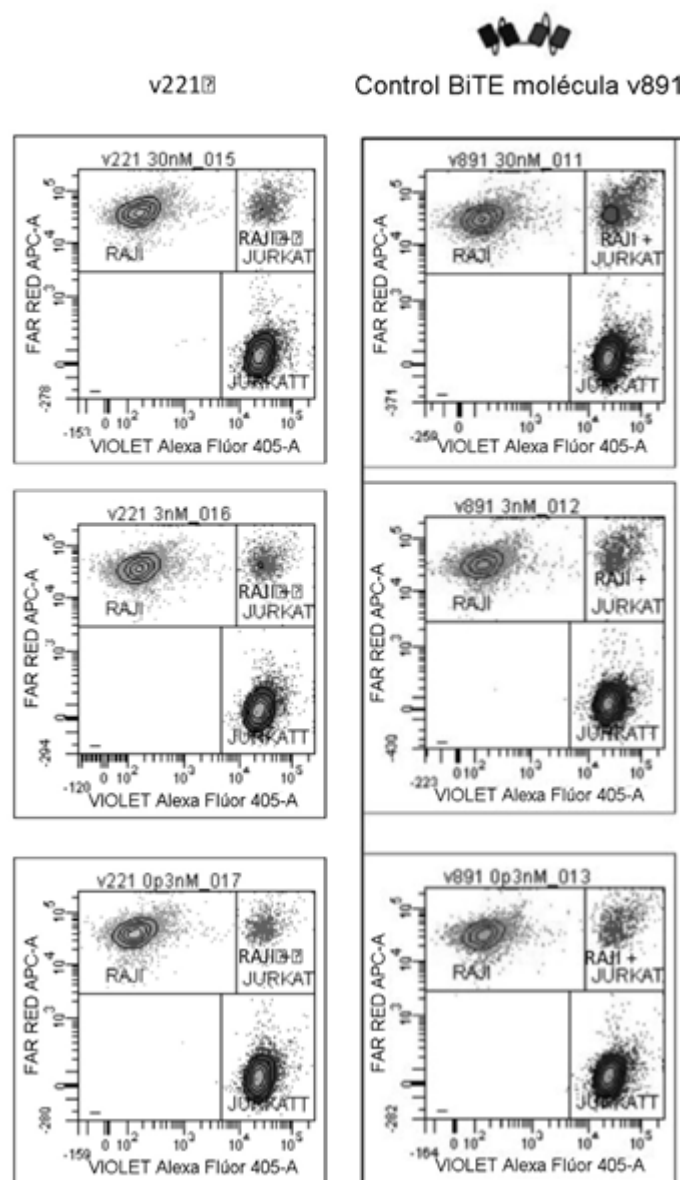


Figura 30B cont.

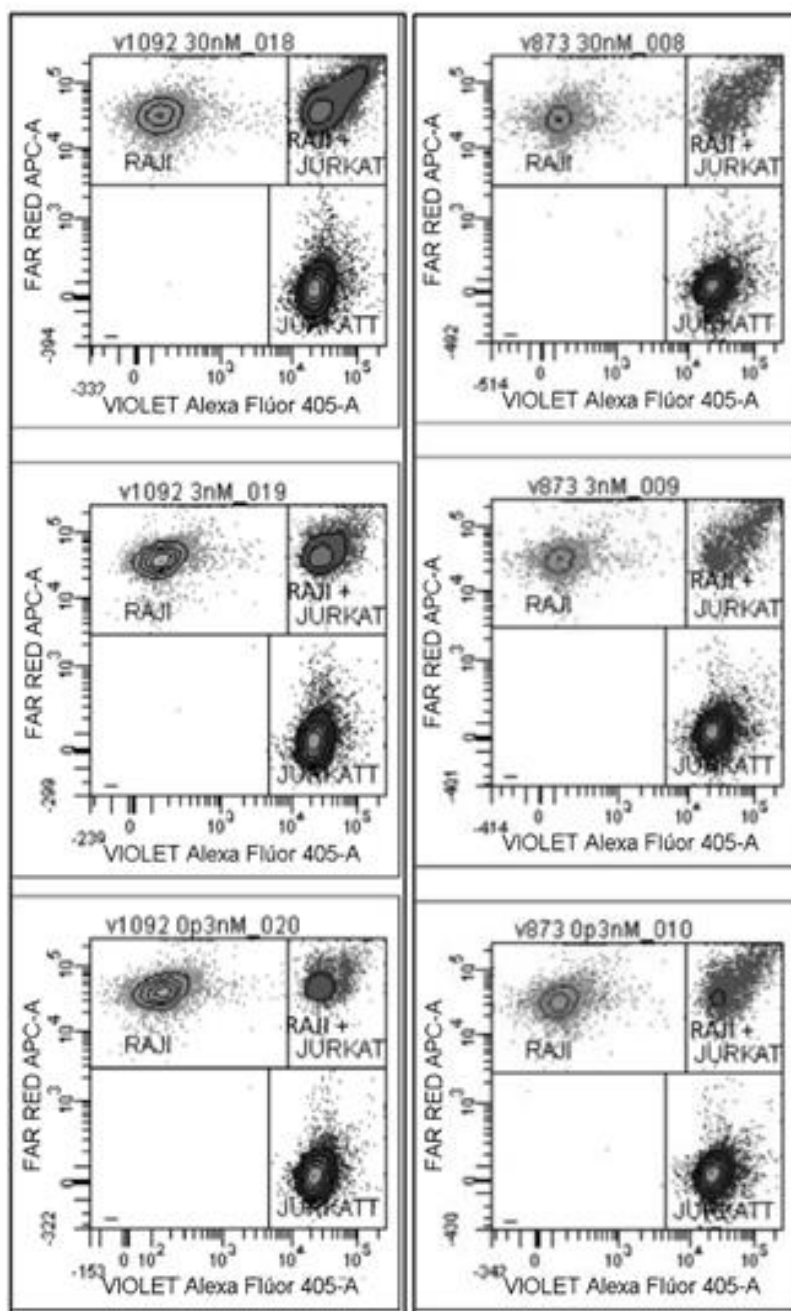


Figura 31A

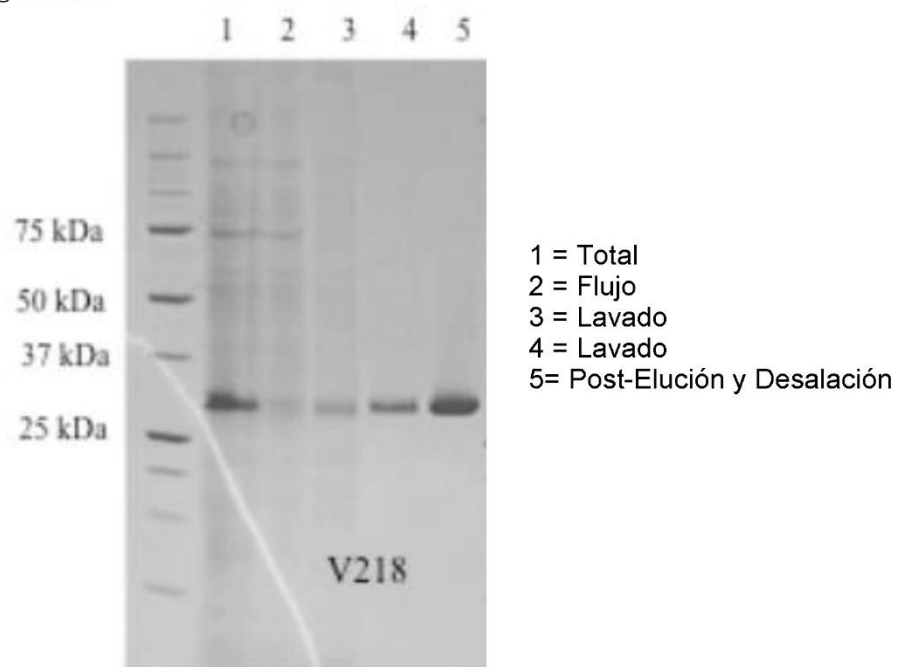


Figura 31B

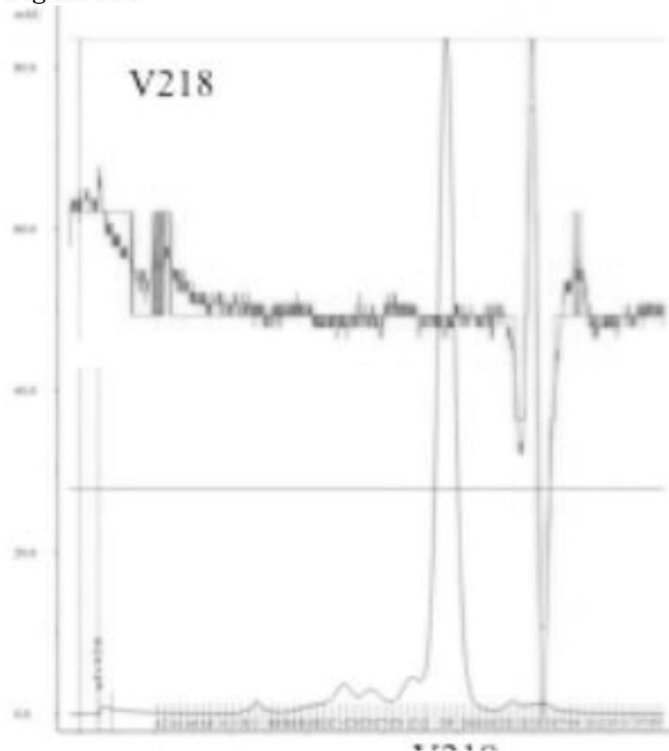


Figura 32

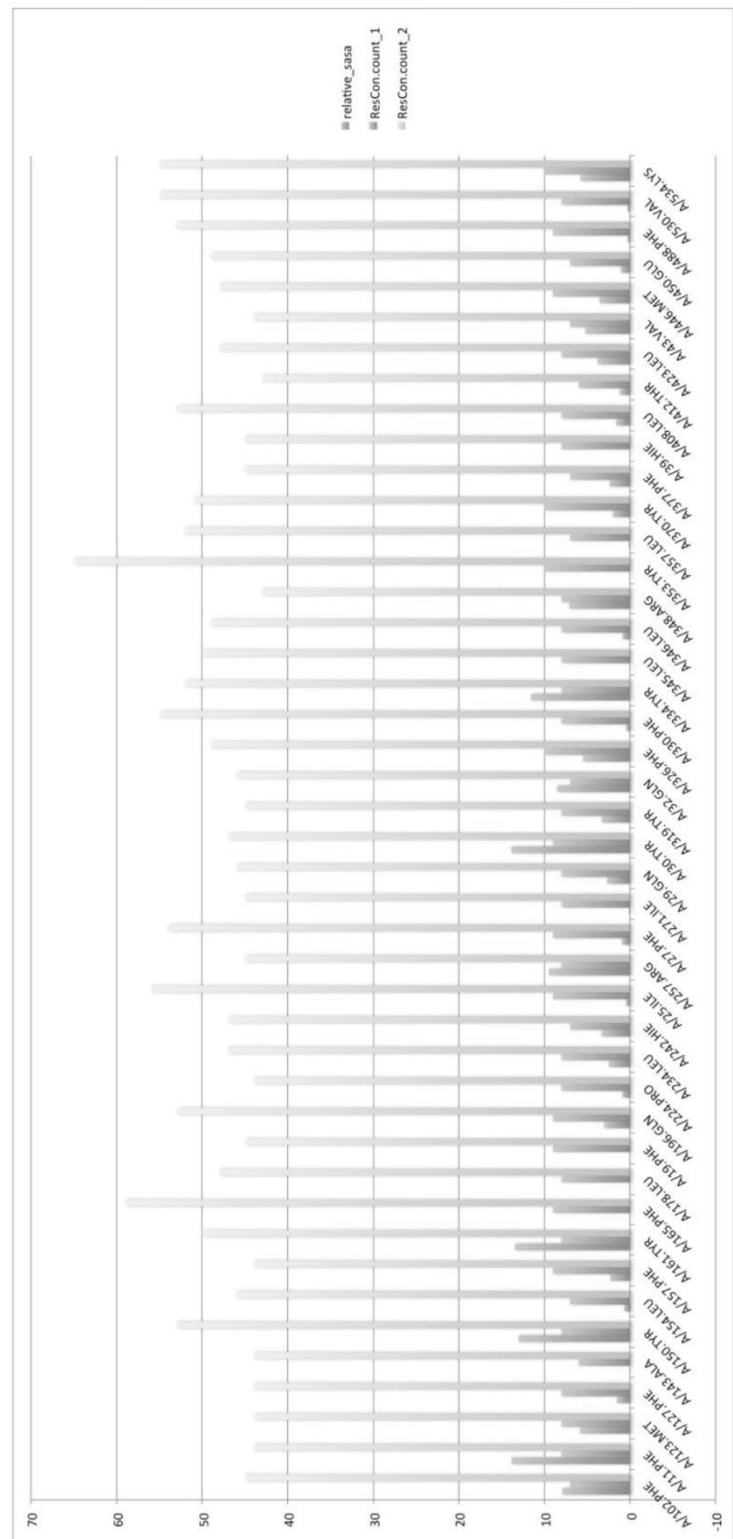


Figura 33

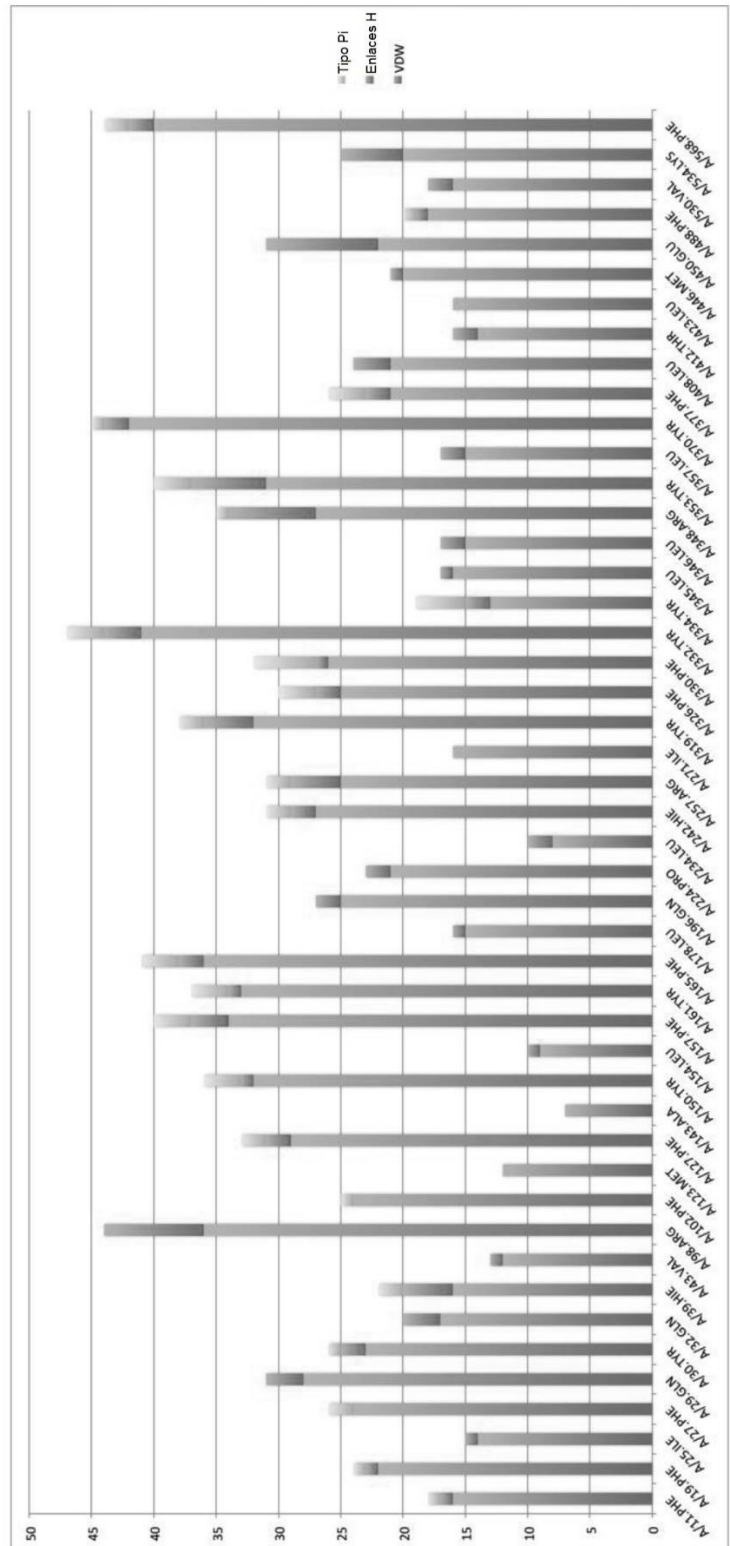


Figura 34

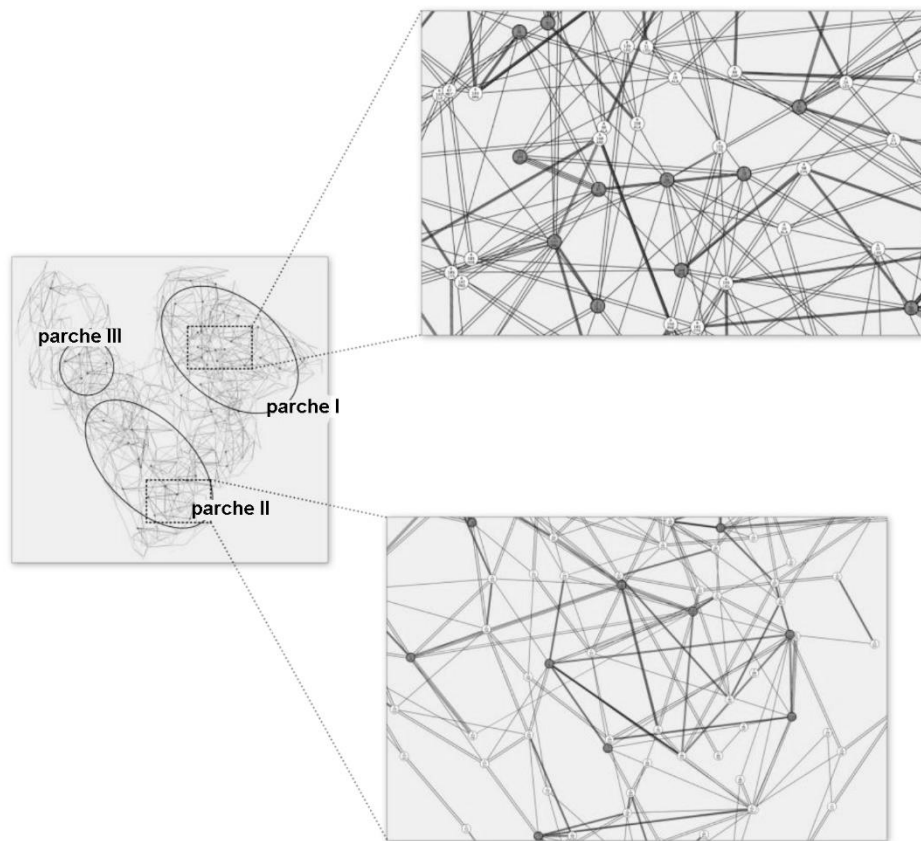


Figura 35

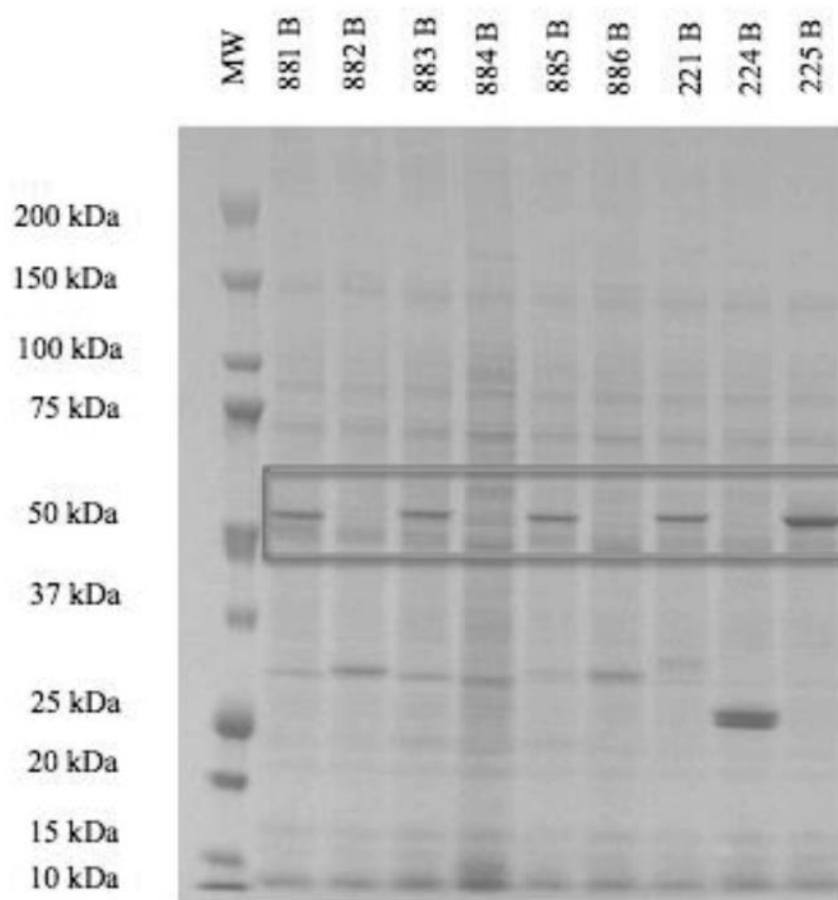
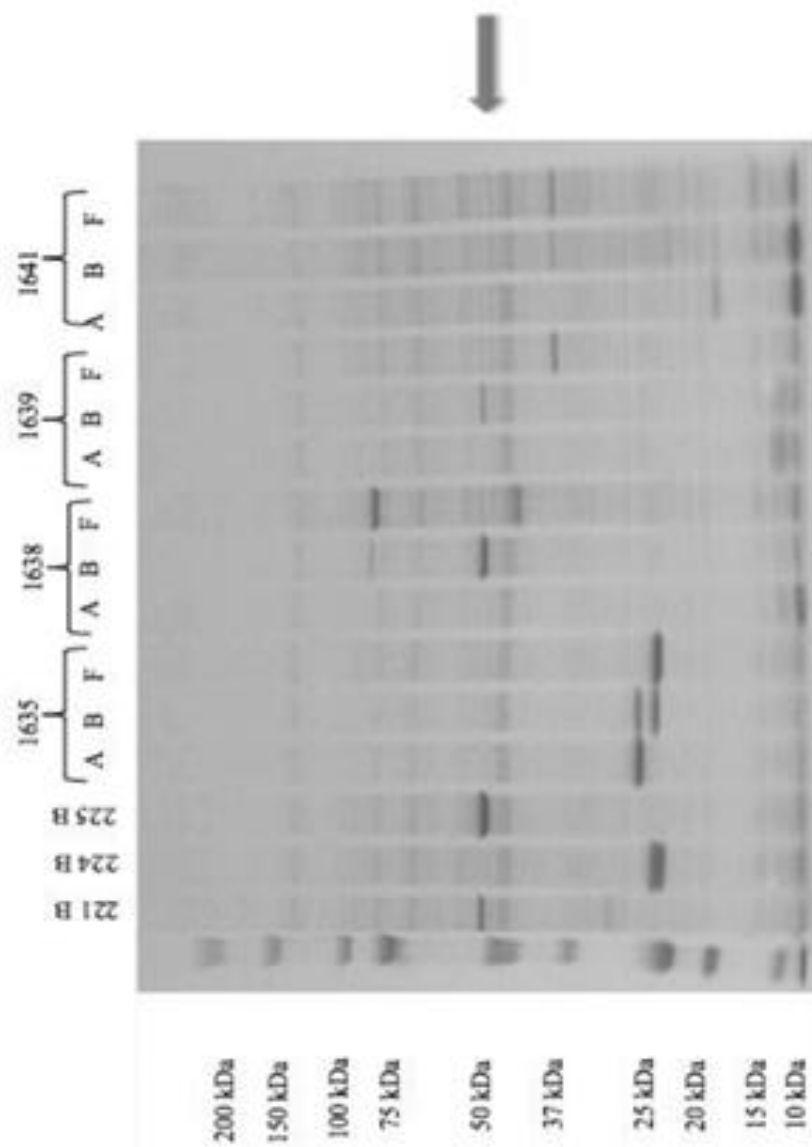


Figura 36

A



B

